Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
– Bereich Stoffwechsel –
der Freien Universität Berlin
im
Klinikum Charlottenburg

DIGOXINBLUTKONZENTRATIONEN ZUR BEURTEILUNG DER KLINISCHEN WIRKSAMKEIT

Inaugural Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt
von
Jutta Schneider
Berlin

1975

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
- Bereich Stoffwechsel -
der Freien Universität Berlin
im
Klinikum Charlottenburg

DIGOXINBLUTKONZENTRATIONEN ZUR BEURTEILUNG DER KLINISCHEN WIRKSAMKEIT

Inaugural Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt
von
Jutta Schneider
Berlin

Referent: Professor Dr. med. Antonio Ruiz-Torres
Koreferent : Professor Dr. Norbert Rietbrock

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 8. Juli 1975

Digoxinblutkonzentrationen zur Beurteilung der Klinischen Wirksamkeit

Inhaltsverzeichnis

I. Literaturübersicht: ..... S. 5

1. Zur Methodik ..... S. 5

2. Zur Frage der Beziehung der Blutkonzentration zur Wirkung ..... S. 9

II. Methodik: ..... S. 19

1. Allgemein ..... S. 19

2. Arbeitsanleitung ..... S. 2o

3. Berechnung der Ergebnisse ..... S. 21

4. Überprüfung der Methode ..... S. 22

a Spezifität des Antikörpers ..... S. 22
b Inkubation ..... S. 3o
c Trennung ..... S. 33
d Zentrifugation ..... S. 37
e Szintillatoren ..... S. 39
f Beständigkeit des ^{3}H-Digoxin ..... S. 39
g Reproduzierbarkeit ..... S. 41
h Schlussfolgerungen ..... S. 44

5. Modifikation der Methode ..... S. 47

6. Patientenmaterial, pharmazeutische Präparate, klinische Bezugsgrössen und Bedingungen ..... S. 48

III. Ergebnisse : ..... S. 49

1. Blutspiegel bei Digitaliserhaltungsdosis ohne klinisch nachweisbare Herzinsuffizienz ..... S. 49

2. Digoxinserumkonzentration bei Einschränkung der Elimination ..... S. 53

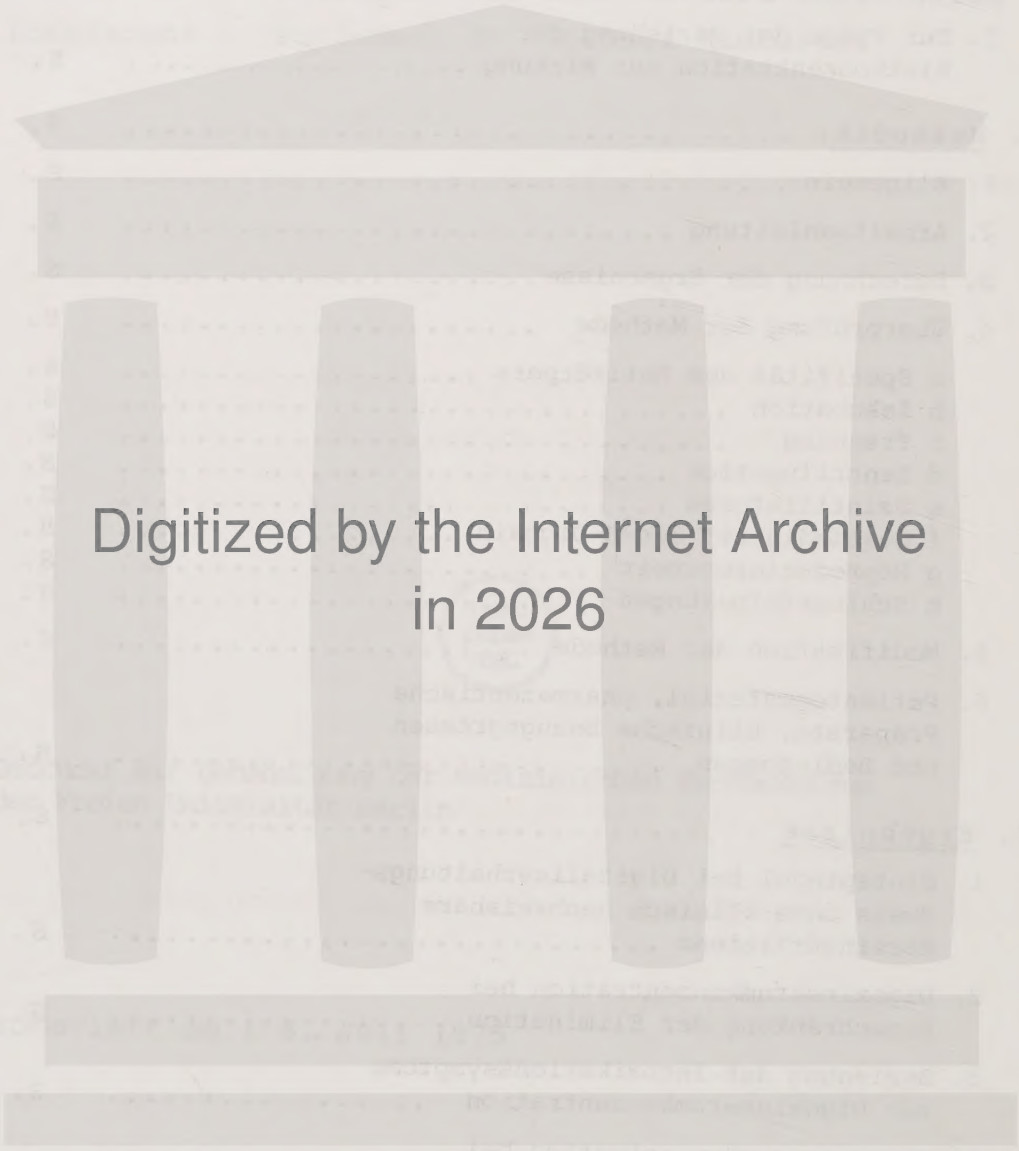
3. Beziehung der Intoxikationssymptome zur Digoxinserumkonzentration ..... S. 55

4. Digoxinserumkonzentration bei Schilddrüsenfunktionsstörung ..... S. 6o

IV. Diskussion: ..... S. 63

V. Zusammenfassung: ..... S. 72

VI. Literaturverzeichnis: ..... S. 74



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548901_0030

I. Literaturübersicht:

1. Zur Methodik:

Bei der Behandlung mit Herzglykosiden kommt es bei Therapieschemata, entwickelt an Hand empirischer Erfahrung (GILLMANN 1963 und 1965; HOFER 1968 und SCHAEFER 1973), und haemodynamischer Untersuchungen (ENSELBERG 1955; MICHEL 1958; SONNENBLICK 1966; SCHNEIDER 1971 und SCHOENWALD 1974) zu individuellen Digitaliswirkungen. Diese sind nicht durch eine divergierende Herzwirksamkeit (GILLMANN 1963), sondern durch eine unterschiedliche Kinetik der einzelnen Glykoside im Organismus erklärbar.

Zum Nachweis herzwirksamer Glykoside sind biologische Methoden wie die Bestimmung der Dosis letalis (HOFFMANN 1952; GREEFF 1958 und VOGT 1967) und die Erzeugung von Arrhythmien am embryonalen Entenherzen nach PAFF, modifiziert nach FRIEDMAN und BINE (1948 und 1952) benutzt worden. Das Herzpräparat ist in der Lage, bis zu 5 ng/ml zu registrieren. An Ratten verursachen Herzglykoside nach GREEFF et al. (KAY 1955; BODE 1956 und GREEFF 1958) bei anfänglicher Hyperkaliaemie eine Steigerung der renalen Kaliumausscheidung (bei Küken dagegen nach ORLOFF et al. (1960) eine Verminderung). Diese extracardialen Effekte, die nichts über die Herzwirksamkeit der Glykoside aussagen, haben eine untere Nachweisgrenze von 12,5 µg/ml.

Wesentlich empfindlicher sind die 1960 von GREEFF angegebenen Untersuchungen an der isolierten Rinderretina mit Hemmung der Kaliumaufnahme durch Glykoside (100 ng/ml) und die digitalisdosis-abhängige Hemmung des Ionentransportes an der Erythrozytenmembran. Zu erwähnen sind die Erythrozyten-, Kalium- oder ^{86}Rubidiumaufnahme nach SCHATZMANN (1953), modifiziert

nach GREEFF (PIE/CHOWSKI 1964) oder LOWENSTEIN mit einer Erfassungsgrenze von 50 ng/ml (LOWENSTEIN 1965 und 1966; GJERDRUM 1973). Die enzymatische Methode nach BURNETT und CONKLIN (1968) (Hemmung der Membran-ATP'ase) erlaubt den Nachweis von weniger als 10 ng/ml.

Alle bisher angegebenen Methoden lassen den Metabolismus außer acht. Sie bringen nur quantitative Ergebnisse, wenn das zu untersuchende Glykosid bei der Organpassage unverändert bleibt oder die entstehenden Metabolite eine vergleichbare cardioaktive Wirksamkeit behalten. Unter den chemischen Methoden wird die Verwendung des PESEZ'schen Xanthydrol-Desoxose-Reagenz bevorzugt wegen der langzeitigen Stabilität der Extinktionen und der hohen Empfindlichkeit, insbesondere wenn das Lösungsmittel Formamid enthält (TUZSON 1955). Bei diesem Verfahren ist die Farbintensität der in der Eisessiglösung freiwerdenden Digitoxose proportional (STORSTEIN 1973). Die Erfassungsgrenze dieser Methode liegt bei weniger als 1 µg. Eine quantitative Erfassung des Steroidanteiles (Genin) gelingt nach REPKE (1958) mit m-Dinitrobenzol. Ein Nachteil dieser Methode ist die Unbeständigkeit der Farbreaktion, die nicht unerhebliche Meßschwankungen bedingt. Andere auch auf der Grundlage der ZIMMERMANN'schen Reaktion entwickelten Methoden, wie die mit Trinitrophenol nach NEUWALD 1950 erfassen Mengen von mehr als 15 µg.

Durch den Einsatz radioaktiv markierter Glykoside ist es möglich, die Nachweisempfindlichkeit gegenüber den chemischen Methoden um ein Vielfaches zu steigern. Markierungen mit ^{14}C nach OKITA (1953) und GEILING (KAY 1955) setzen eine aufwendige Züchtung von Pflanzen mit $^{14}Co_2$ voraus. Auch stellen

sie bei einer Halbwertzeit des ^{14}C von 5.600 Jahren bei pharmakologischen Untersuchungen am Menschen eine Strahlenbelastung dar. Markierungen mit Tritium sind schneller durchzuführen und ergeben eine höhere spezifische Aktivität (HABERLAND 1970). Es muß gewährleistet sein, daß das Radionuklid im Verlaufe der Untersuchungen aus dem Steroid nicht freigesetzt wird. Zur Behandlung pharmakokinetischer Probleme stellt die Kombination von Radioisotopentechnik und chromatographischem Verfahren eine optimale Methode dar (GONZALES 196o; GERDES 1965; MALAMOS 1965 und DWENGER 1970). Die Prüfung erfolgt auf Kieselgel-Dünnschichtplatten im verschiedenen Laufmittelsystem, in trockenem Essigester und in Chloroform-Methanol-Gemischen.

1969 beschreibt LUKAS eine Doppelisotopenmethode (Isotopendilutionsmethode) unter Verwendung von ^{3}H und ^{14}C zur Digitoxinbestimmung. 1968 entwickeln OLIVER (OLIVER 1968 und 1973; PETERS und GROSSE-BROCKHOFF 1974) für Digitoxin und 1969 SMITH et al. für Digoxin in Anlehnung an die Immunassays von YALOW und BERSON 195o und HERBERT et al. 1965 radioimmunologische Bestimmungsmethoden. Diese Methoden werden ermöglicht durch die Herstellung von Antikörpern durch BUTLER und CHEN (1967). Mit Hilfe von Digoxin-Albumin-Konjugaten als Antigen lassen sich an Kaninchen Antikörper erzeugen, die in vitro das Glykosid (^{3}H und unmarkiertes Digoxin) binden.

Radioimmunassays zeigen nach BERTLER und REDFORS im Vergleich mit der ^{86}Rb-Methode von LOWENSTEIN gute Übereinstimmung bei Messung der Digoxinkonzentration im Blut (1973). Eine eigene diesbezügliche Ergebniszusammenstellung (Tabelle: 1) zeigt, daß mit der ^{86}Rb-Methode etwas niedrigere Glykosidkonzentrationen als mit radioimmunologischen Untersuchungen festzustellen sind. Allerdings sind wegen zum Teil fehlender Angaben über Höhe und Dauer der Dosis, Zeitpunkt der

D = Digoxin
ßA = ß-Azetyldigoxin
ßM = ß-Methyldigoxin

AUTOR	JAHR	METHODE	DOSIS mg	ZEITPUNKT DER BLUTENTNAHME Std.	DIGOXIN-KONZENTRATION ng/ml
PARK	1973	RA ^{125}J	o,25 D o,25 D	5 - 3o	1,1
STROBACH	1972/73	RA	o,5 D o,4 ßA o,3 ßM	24	1,2 1,3 1,4
OLIVER et al.	1968	RA	?	?	1,6
KØLENDORF	1972	RA	o,125 - 1,o D	12 - 24	1,4
GROSSE-BROCKHOFF et al.	1973	RA	o,4 ßA	24	1,71
SMITH u.BUTLER et al.	1969/71	RA	o,25 o,5	8 - 48	1,1 1,4
GREEFF et al.	1973/74	RA	o,5 D o,4 ßA o,3 ßM o,5 D o,4 ßA o,3 ßM	1 1 1 14 14 14	1,88 1,63 1,53 1,o8 1,26 1,26
EVERED et al.	197o	RA	o,25 D o,5 D o,75 D	? ? ?	1,14 1,86 2,o3
LARBIG	1972	RA	o,375 - o,5 D o,3 - o,4 ßA	? ?	1,5 1,5
SHEINER et al.	1973	RA	?	?	o,98
WAGNER et al.	1973	RA	o,25 D	?	o,98
ANGGARD et al.	1972	RA	?	?	1,61
CHAMBERLAIN et al.	197o	RA	o,25 - o,375 o,5 o,625 - o,75 D	8 - 24 8 - 24 8 - 24	o,9 1,5 2,1
BINNION et al.	1969	^{86}Rb	o,25 D	1	o,6
BELZ et al.	1974	^{86}Rb	o,4 ßA	24	1,3
SHAPIRO et al.	1972	^{86}Rb	?	?	1,7
LOWENSTEIN et al.	1965	^{86}Rb	o,25 - o,5 D	?	o,5
REDFORS et al.	1973	^{86}Rb	o,25 D o,375	24 24	o,8 1,55

Tabelle 1: Vergleich der gemessenen Digoxinkonzentrationen in Abhängigkeit von der gewählten Methode

Blutentnahme nach der letzten Digitalismedikation und zusätzlich Parameter wie Alter des Patienten bzw. eingeschränkte Nierenfunktion genaue Vergleiche nicht möglich. Falsch überhöhte Digoxinkonzentrationen werden bei beiden Methoden vermerkt.

2. Zur Frage der Beziehung der Blutkonzentration zur Wirkung:

Die wesentliche Wirkung der Digitalisglykoside am Herzen beruht auf einer Steigerung der Kontraktionskraft und einer Senkung der Schlagfrequenz. Die Kontraktion der Herzmuskelzelle, die durch den Zusammenschluß der kontraktilen Eiweißkörper (Myofibrillen) erfolgt, ist ein energieverbrauchender Prozeß, für den ATP notwendig ist. Kalzium aktiviert in ionisierter Form die ATP'ase der Myofibrillen; der Anteil der in der Muskelzelle vorliegenden ionisierten Kalzium-Fraktion wird durch Digitalisglykoside erhöht. Zusätzlich findet bei jeder Erregung der Muskelzelle ein Austausch von Natrium-und Kaliumionen statt, der mit einer Potentialänderung verbunden ist. Es besteht ein starkes Konzentrationsgefälle für Kalium von innen nach außen und für Natrium von außen nach innen. Durch passive Ionendiffusion findet zu Beginn des Aktionspotentials ein Einstrom von Natriumionen statt, ferner ein Ausstrom von Kaliumionen mit einem Maximum während der systolischen Kontraktion. Während der Diastole wird durch einen aktiven Ionentransport Kalium gegen den Konzentrationsgradienten in die Zelle hinein und Natrium aus der Zelle heraus transportiert. Die Zellmembran besitzt eine ATP'ase, die durch Natrium und Kalium aktiviert, durch Digitalisglykoside gehemmt wird (KLAUS 1964; GREEFF 1973).

Cardiale und extracardiale Wirkungen (z.B. Erbrechen, Kaliurese, Tonussteigerung von glatter und quergestreifter Muskulatur, Erregung des Vaguszentrums) (BUSSE et al. 1955) sind direkt abhängig von der Digitalisdosis und dem zeitlichen Anfluten am Erfolgsort. Resorption, Verteilungsraum, evtl. Affinität der Glykoside zu einzelnen Organen sowie ihre Elimination beeinflussen ihre Wirksamkeit.

Serum-Digoxin-Konzentration und Herzwirkung stehen in enger Relation zueinander. SHAPIRO et al. (1970) weist nach einmaliger intravenöser Gabe von 1,o mg Digoxin eine enge Korrelation zwischen Digoxin-Konzentration und Austreibungszeit nach. Der inotrope Effekt beginnt zum Zeitpunkt des meßbaren schnellen Abfalles der Digoxin-Konzentration, erreicht ein Maximum nach 3 bis 4 Stunden, um dann parallel zu der langsamen Exkretionsphase des Digoxins zu verlaufen. Haemodynamische Wirkungen und auch das Auftreten von Intoxikationszeichen werden bisher vorwiegend in Abhängigkeit von der Dosis eines bestimmten Digitalispräparates und der Applikationsart angegeben, woraus Rückschlüsse auf Resorption und Abklingquote gezogen werden (GILLMANN 1963). Die erreichbaren Serumkonzentrationen sind abhängig von dem jeweiligen Digitalispräparat, deren Dosis und Applikationsart, d.h. der erfolgten Resorption. Sichere Intoxikationszeichen treten nach vorliegenden Angaben durchschnittlich bei Digoxin-Konzentrationen von 2,5 ng/ml auf. (WESSELS 1974). Eine eindeutige Korrelation zur PQ-Zeit wird beschrieben.(RUIZ-TORRES 197o). Zur Speichel-Elektrolytveränderung besteht nach DOHERTY (1967) entgegen den Angaben von BOLTE et al.(1973) jedoch keine Korrelation.

Die enterale Resorption der Glykoside findet im oberen Gastrointestinaltrakt statt. Für ß-Acetyldigoxin kann WAGNER (1973) bei Katzen eine Bevorzugung des Ileum zeigen. Bei der Magenpassage unterliegen Digitoxin und Digoxin nach KASAHARA und RUIZ-TORRES (1969) unter Säureeinwirkung einer pH-abhängigen (1,0 - 3,0) Hydrolisierung und damit Minderung der Digitaliswirkung. Bestätigt werden diese Befunde durch eine Verbesserung der Resorption verschiedener Digitalispräparate bei verminderter Säureproduktion (SCHAUMANN 1970; BEERMANN 1972). VOIGTLÄNDER (1972) kann dagegen keinen Einfluß von "Verdauungssäften" auf ß-Methyldigoxin zeigen.

Wie Achylie die absolute Resorption begünstigt, kann z.B. Herzinsuffizienz die Digitalisaufnahme hemmen (SCHAUMANN 1970; OLIVER 1973) etwa durch Ödem der Magenschleimhaut und Verminderung des intestinalen Blutflusses (LÜLLMANN 1973). Allerdings können weder WILDMEISTER et al. (1973) noch DOHERTY (1967) bei Herzinsuffizienz-Patienten eine verminderte Plasmadigoxinkonzentration ermitteln.

Malabsorption erniedrigt jedoch die Plasmakonzentration erheblich (HEIZER 1970; SMITH 1970; GOLDFINGER 1973), bei gleichbleibender Dosierung bis zu 30%. Bei Hyperthyreose sind die Plasmaspiegel nach ^{3}H Digoxin-Verabfolgung ebenfalls erniedrigt nicht nur bei gleichzeitiger Diarrhoe (DOHERTY 1973). Postprandial ist die Resorption der Glykoside nach WHITE et al. (1971) verlangsamt. Es ergeben sich jedoch bei Langzeitüberwachung gegenüber der Kontrollgruppe, die das Medikament nüchtern verabfolgt, keine Differenz der Plasmakonzentrationen.

Insgesamt ist das Ausmaß der enteralen Resorption eines Glykosides von seiner Polarität abhängig.

Bei verminderter Polarität ist die Lipoidlöslichkeit und damit die Resorption verbessert (BENTHE 1973). Die Einführung einer Acetylgruppe (MEGGES und REPKE 1961; HABERLAND 1965) sowie einer Methylgruppe (SCHAUMANN 1970; GREEFF 1973) verbessern die Resorption. Bestätigt wird diese Annahme durch haemodynamische Untersuchungen (HOFER 1968; SCHOENWALD 1974) und Plasmakonzentrationsverlaufskontrollen bei Mensch und Tier (WHITE 1971; LARBIG 1971; WIRTH 1971, RENNEKAMP 1972; STROBACH 1972; BEERMANN 1972 und GILFRICH 1973; SCHAUMANN 1972; RIETBROCK 1972). Die Mehrzahl der Untersucher gibt eine fast vollständige Resorption für ß-Methyldigoxin an. WIRTH(1971) ermittelt für diese Substanz eine 90%ige, für ß-Acetyldigoxin eine 78%ige und für Digoxin eine 70%ige Resorption. RUIZ-TORRES und BURMEISTER (1972) zeigen gegenüber Digoxin eine quantitativ höhere und konstantere Resorption von ß-Acetyldigoxin an Hand von Blut-, Urin- und Stuhluntersuchungen. Gleichzeitig wird eine schnelle Desacetylierung während des Resorptionsvorganges nachgewiesen. Andere Autoren bestätigen diesen Befund. (VON BERGMANN 1972; RIETBROCK 1972; HEEG 1973). Die Demethylierung des ß-Methyldigoxins erfolgt langsam (VON BERGMANN 1972; RIETBROCK 1972 und 1973). HOFER (1968) und BELZ (1974) finden die gleichen Plasmakonzentrationen nach Verabfolgung von Digoxin, ß-Acetyl- und ß-Methyldigoxin trotz niedrigerer Dosierung der letztgenannten Substanzen, was auf die verbesserte Resorption hinweist (STROBACH 1972; VOIGTLÄNDER 1972 und BEERMANN 1973).

Nach erfolgter Resorption gelangt Digoxin zum einen über den portalen Kreislauf in die Leber, zu einem kleinen Teil auch über das lymphatische System in den Ductus thoracicus (MARCUS 1973). 1955 weist OKITA erstmals eine biliäre Ausscheidung von

^{14}C-markiertem Digitoxin nach. Für ß-Methyldigoxin können RIETBROCK et al. (1971 und 1972) bei der Ratte mittels Gallenfistel dies nicht bestätigen. Es bestehen jedoch, wie von der gleichen Arbeitsgruppe ermittelt, deutliche Speziesunterschiede hinsichtlich der Glykosidausscheidung über die Gallenwege. Gleichartige Untersuchungen am Menschen erbringen nach BEERMANN (1972) und KÖTHE (1973) keine Unterschiede der biliären Ausscheidung für ß-Methyldigoxin gegenüber ß-Acetyldigoxin.

Je nach der Schnelligkeit der Resorption erfolgt ein mehr oder weniger steiler Serumkonzentrationsanstieg. Zunehmende Lipoidlöslichkeit erhöht den Verteilungskoeffizienten (BENTHE 1970 und 1973) und beschleunigt die Resorption (ENSELBERG 1953). So ist das Maximum der Plasmakonzentration für ß-Methyldigoxin nach oraler Applikation bereits nach 15 Minuten (RENNEKAMP und VON BERGMANN) bzw. 22 Minuten (LARBIG 1971) erreicht, für Digoxin nach 30 bis 60 Minuten (DOHERTY 1961 und 1973). Für Digitoxin wird das Resorptionsmaximum von LUKAS stark schwankend zwischen 30 Minuten und 4 Stunden angegeben (1973).

Die Höhe der Konzentrationen im Plasma ist abhängig von der Dosis und dem Verteilungsraum. Man muß hinsichtlich der Elimination der Glykoside aus dem Blut 3 Phasen annehmen (RIETBROCK 1973): die schnelle Organverteilung, die Metabolisierungsphase mit Rückverteilung aus der Leber und renale Ausscheidung und die späte Phase, gekennzeichnet durch Rückdiffusion aus tiefen Kompartimenten und weiterhin renale Ausscheidung.

Die Verteilung erfolgt innerhalb weniger Minuten.

So sind nach i.v.-Gabe von Digoxin nach 3 Minuten (MARCUS 1973) nur noch 16% des Glykosids im Plasma meßbar, nach 1 Stunde nur noch 3%. Die größte Anreicherung der Glykoside wird in der Niere ermittelt; dann in abfallender Konzentration im Herzen, Pankreas, Nebenniere, Diaphragma, Leber und Schilddrüse (BINNION 1969; BUTLER 1970 und DOHERTY 1967 und 1973). Die Skelettmuskulatur nimmt Digoxin in gleicher (DOHERTY 1967) bzw. geringerer Konzentration (CHAMBERLAIN und REDFORS 1973) auf, als der Herzmuskel, insgesamt aber den Hauptanteil des Glykosids, da sie etwa 40% des Körpergewichtes ausmacht.

Im Falle des Digitoxins überwiegt die Konzentration in der Leber der am Herzmuskel (BINE 1951). Das Verhältnis der Konzentration am Herzmuskel zu der im Plasma wird für Digoxin unterschiedlich angegeben zwischen 30 : 1 (DOHERTY 1967) und 75 : 1 (REDFORS 1973). Zu erwähnen ist noch die unterschiedliche Bindung von Digoxin und Digitoxin an Plasma und Erythrozyten. Wie ABSHAGEN 1971 zeigt, besteht bei Digoxin am Menschen kein Unterschied zwischen Plasma- und Erythrozytenkonzentration, bei Digitoxin jedoch im Plasma deutlich höhere. Auf unterschiedliches Verhalten der Spezies (Ratte und Katze) wird hingewiesen (ABSHAGEN 1971). Die kaum meßbare Konzentration im Gehirn kann durch eine Blut/Hirnschranke erklärt werden (DOHERTY 1967).

Bei Niereninsuffizienz steigt die Konzentration im Herzen gegenüber der Niere an. Daneben können medikamentöse Einflüsse, sowie pH- und Elektrolytänderungen die Bindung am Herzen beeinflussen. So wird nach MARCUS (1973) die Konzentration (COHN 1967 und HARRISON 1969) im Herzmuskel durch Kaliumzufuhr

gegensinnig zur Plasmakonzentration, nach Reserpin auch im Plasma erniedrigt. Die erhöhte Toxizität nach Digitaliszufuhr bei Alkalose, Hypermagnesiaemie und Hypercalciaemie sowie Hypokaliaemie könnte durch Konzentrationsänderungen am Herzen erklärt werden (DEANE 1951; PAGE 1955; KNIPPERS 1964; WARREN 1968; SELLER 1970 und SCHAUMANN 1973).

Überraschend ergibt sich bei MARCUS (1973) sowohl nach Haemodialyse als auch nach Glukoseinfusionen zwar eine Hypokaliaemie, aber keine Veränderung der Herzkonzentration, wohl aber nach Glukosegabe ein Anstieg der Konzentration im Skelettmuskel. Der gleiche Autor weist auf die unterschiedliche Anreicherung von Digoxin an die Purkinje-Fasern und das Hiss'sche Bündel gegenüber dem Myocard beim Schaf hin. Peritoneal- und Haemodialyse beeinflussen auch nicht die Digoxin-Plasma-Konzentration signifikant (ACKERMANN 1967).

Die Verweildauer der einzelnen Herzglykoside im Organismus ist durch die Bindung an Albumin zeitlich determiniert (LUKAS 1969). Eine hohe prozentuale Bindung des Digitoxins erklärt die langanhaltende Wirkung. Sie wird mit 96 - 97% angegeben (KRAMER 1972; LUKAS 1973 und ROESCH 1973) bei einer Digitoxinkonzentration von 0,01 - 12 µg/ml. Die Menge des Digitoxins, das an Albumin gebunden ist, variiert mit der Proteinkonzentration, liegt aber noch bei 1 g/100 ml bei 90%. pH-Änderungen in einem Intervall von 6,0 - 9,0 sowie Calcium- oder Kaliumzufuhr sind nach den Ergebnissen von LUKAS (1973) ohne Einfluß auf die Eiweißbindung.

Die Angaben über die Eiweißbindung von Digoxin und deren Derivate schwanken in der Literatur erheblich. Für Digoxin werden bei LUKAS mit 2% (1973), 20 - 30%

bei MARCUS (1973) und KUSCHINSKY (1969) und 46% bei DOHERTY (LARESE 1973 und DOHERTY 1971 und 1973) und KRAMER (1972) sowie 54% bei SCHAUMANN (1973) angegeben. Untersuchungen von DOHERTY 1971 mit Gel-Filtration und Membrandialyse ergeben Eiweißbindungen zwischen 1 - 10%. Ein Absinken der Albuminkonzentration von 4 g/100 ml auf 2 g/100 ml vermindert die Eiweißbindung für Digoxin von 23% auf 13%; Hypercholesterinaemie reduziert ebenfalls die Eiweißbindung (MARCUS 1973). Die Eiweißbindungsfähigkeit von ß-Methyldigoxin ist trotz größerer Lipophilie nicht höher als die des Digoxin (WIRTH 1970; KRAMER 1972; SCHAUMANN 1973).

Neben der Eiweißbindung ist die Wirkungsdauer der Herzglykoside von der Metabolisierung zu herzaktiven und herzinaktiven Stoffwechselprodukten abhängig. OKITA kann 1953 und 1955 durch Untersuchungen mit ^{14}C-markiertem Digitoxin nachweisen, daß Digitoxin nur in ca. 5% unverändert über die Niere ausgeschieden wird. STOLL und RENZ haben 1951 bereits gezeigt, daß endständige Glukoseeinheiten verschiedener Herzglykoside in vitro durch Fermentpräparate an tierischen Organen abgespalten werden können. BROWN weist 1956 auf die C_{12}-Hydroxylierung des Digitoxins und damit seine Umwandlung in Digoxin hin. Nach heute vorliegenden zusammengefaßten Untersuchungsergebnissen (LUKAS 1973) erfolgt die Biotransformation des Digitoxins über die schrittweise Abspaltung der Digitoxose bis zum Digitoxogenin (HOLTZ und REPKE 1958), über die 12-ß-Hydroxylierung Umwandlung in Digoxin, Zuckerabspaltung bis zum Digoxigenin und anschließende Konjugierung (HERRMANN, PORTIUS und REPKE 1964). Eine Konjugation ist aber auch auf der Stufe des Digoxins, des Digoxigenins -bis- und -mono-digitoxosids möglich (RIETBROCK 1973).

Bereits 1964 durch MARCUS, später durch die Untersuchungen von RIETBROCK et al. (VON BERGMANN; RENNEKAMP 1972 und RIETBROCK 1973) wird auf die anfänglich schnelle Elimination chloroformunlöslicher, herzinaktiver Metabolite hingewiesen, während in der späteren Phase der Elimination die chloroformlöslichen, herzaktiven Produkte überwiegen. DWENGER und HABERLAND können 1972 diese Befunde bestätigen. Die Ausscheidung der Reinsubstanz und der cardioaktiven bzw. -inaktiven Metabolite erfolgt über Galle und Niere (DOHERTY 1967 und 1973; MARCUS 1973). Bei i.v. Applikation ist die Ausscheidung über die Niere höher (DOHERTY 197o).

Entsprechend tierexperimentellen Untersuchungen an Ratten mit angelegter Gallenfistel überwiegt nach intraduodenaler Applikation für Digoxin und ß-Acetyldigoxin die Ausscheidung über die Gallenwege, bei Methyldigoxin besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen Galle und Urin (VON BERGMANN 1972); d.h. insgesamt wird Methyldigoxin nur zu 1/4 der Rate von Digoxin biliär eliminiert. KÖTHE (1973) zeigt an Patienten mit Gallenfistel widersprüchliche Befunde, d.h. sowohl für Digoxin als auch für ß-Methyldigoxin ein Überwiegen der biliären Ausscheidung. Der Lebermetabolismus und die biliäre Elimination scheint in einzelnen Spezies zu differieren; nach MARCUS (1973) sind die Befunde beim Hund denen beim Menschen am ähnlichsten. Chronische Leberfunktionsstörungen einschließlich der Lebercirrhose (JELLIFFE 1968; MARCUS 1964 und 1973) beeinflussen die Halbwertzeit der Herzglykoside nicht. ZILLY (1973) findet jedoch bei akuter Hepatitis um 30% niedrigere Plasmakonzentrationen.

Die Elimination über die Niere ist direkt proportional dem Glomerulumfiltrat mit dementsprechender

Kumulation bei Niereninsuffizienz (DOHERTY 1964; 1967; 1969; 1970 und 1973; PARK 1973; MARCUS 1973; SCHELER 1973; FALCH 1973; GROSSE-BROCKHOFF 1973; WAGNER 1973; OHNHAUS 1974). Bei sehr starker Minderung der Nierenfunktion liegt die Digoxinclearance über der Inulinclearance, so daß eine aktive tubuläre Sekretion angenommen werden kann (STEINESS 1973). Untersuchungen von DOHERTY an zwei Patienten mit nephrogenem Diabetes insipidus ergeben, daß das Urinvolumen ohne Einfluß auf die Digoxinausscheidung ist (DOHERTY 1973). EWY zeigt 1969 trotz fehlender Nierenfunktionseinschränkung bei älteren Patienten erhöhte Plasmakonzentrationen, LARBIG (1973) eine deutliche Steigerung bei herabgesetztem Körpergewicht. Die von SHEIER 1973 angegebenen Unterschiede zwischen ambulanten und stationären Patienten ist als dosisabhängig anzusehen.

Autor	Jahr	HWZ Digoxin (orale Applikation)
STROBACH et al.	1973	12 Stunden
DOHERTY et al.	1962	33,3 "
JELLIFFE	1968	38 "
BUTLER	1970	41 "
MARCUS	1973	43,2 "
GILLFRICH	1973	50,1 "
BELZ	1974	64 "

Tabelle: 2: Gegenüberstellung der gemessenen HWZ von Digoxin bei den verschiedenen Autoren.

Die in der Literatur angegebenen großen Schwankungsbreiten der Halbwertszeiten (Tabelle: 2) einzelner Herzglykoside - aufgezeigt am Digoxin - sind möglicherweise bedingt durch nicht vergleichbare Patientenkollektive einschließlich Unterschiede hinsichtlich

einer Vortherapie und der Meßdauer. Die Halbwertszeit vermindert sich bei zu kurzer Meßzeit entsprechend der anfänglich schnelleren Elimination.

II. Methodik:

1. Allgemein:

Das Prinzip radioimmunologischer Teste basiert auf der kompetitiven Bindung von radioaktiv markiertem und nicht markiertem Antigen (AG) an einen Antikörper (AK) unter Bildung eines Antigen-Antikörperkomplexes

Die Bindung an einen Antikörper folgt dem Massenwirkungsgesetz:

$$AG = \frac{1}{AG^*}$$

Bei den radioimmunologischen Testen werden lösliche Antigen-Antikörperkomplexe gebildet; während der sogenannten Inkubationsperiode bildet sich ein Gleichgewichtszustand zwischen markierten und unmarkierten Komplexen in der Lösung. Nach Erreichen des Gleichgewichtszustandes wird das freie, radioaktiv markierte AG* vom Komplex gebundenen AG* mit Hilfe einer geeigneten Technik getrennt. Die Aktivitätskonzentration des in Lösung bleibenden Ionenkomplexes dient dabei als Maß für die Konzentration des gleichzeitig anwesenden, nichtmarkierten Antigens.

Benötigte Reagenzien:

a) Puffersystem mit Bakteriostatikumzusatz
b) unmarkiertes standardisiertes Antigen (AG)
c) Humanserum
d) Proben, die unmarkiertes AG enthalten
e) radioaktiv markiertes AG*
f) Antikörper, der spezifisch auf das zu analysierende Antigen reagiert
g) Trennmethode

2. Arbeitsanleitung zur radioimmunologischen Digoxinkonzentrationsbestimmung:
(Methode: CEA-IRE-Sorin-Association, vertreten durch IDW)

Durch venöse Blutentnahme mit anschließender Zentrifugation bei 3.500 Upm (1.370 g) wird Serum bzw. Plasma (nach Zugabe von Liquemin) des Patienten, dessen Digoxinkonzentration im Blut ermittelt werden soll, gewonnen. Die Digoxinkonzentration dieser Proben (Dreifachbestimmungen) wird in Beziehung zu bekannten Digoxinkonzentrationen gesetzt. Zur Ermittlung einer Standardkurve werden zu konstanten Mengen (0,2 ml) lyophilisierten Humanserums (in 4 ml Aqua bidest. gelöst) oder Serum bzw. Plasma einer nicht mit Digoxin behandelten gesunden Person, unterschiedliche bekannte Digoxinkonzentrationen (je 0,1 ml) hinzugefügt (Doppelbestimmungen). Letzteres wird mittels dem in äthanolischer Lösung vorliegenden Standard-Digoxin durch Herstellung einer Verdünnungsreihe (5 bzw. 10 Verdünnungsschritte) von 0,5 - 10,0 ng Digoxin/ml gewonnen.

Anschließend wird tritiummarkiertes Digoxin (0,1 ml) mit einer spezifischen Aktivität von 60 uCi/µg (äthanolische Lösung mit 4,5 ml Phosphatpufferlösung verdünnt) und Digoxinantikörper (0,1 ml) mit einem Endverdünnungstiter von ca. 1 : 500.000 (lyophilisierte Substanz in 5 ml Aqua bidest. gelöst) hinzugefügt.

Zur Erreichung eines Inkubationsvolumens von 1,0 ml wird zuvor mit Phosphatpufferlösung aufgefüllt. Hierzu wird die Trockensubstanz des Phosphatpuffers in 100 ml Aqua bidest. gelöst (pH 7,40).

Zur zusätzlichen Überprüfung der Bindungskapazität des jeweils verwendeten Digoxinantikörpers wird in Dreifachbestimmungen die prozentuale Bindung von ^{3}H-Digoxin (Gesamtaktivität T) an den Antikörper und anschließende Trennung mit Dextranaktivkohle bei Nichtvorhandensein inaktiven Digoxins (Nullwert) durch Minderung der Aktivität (cpm) bestimmt. Die Dextranaktivkohlesuspension wird durch Hinzugabe von 50 ml Phosphatpufferlösung zur Trockensubstanz hergestellt und bis zur Verwendung im Eisbad (zur Konstanterhaltung der Partikelgröße) mit einem Magnetrührer in Lösung gehalten. Die Inkubationszeit beträgt nach 5 Minuten Schütteln im Vibrationsmischer 50 Minuten bei Raumtemperatur (ca. 22° C).

Innerhalb von 3 - 5 Minuten werden anschließend in alle Proben bis auf die mit T bezeichneten (Gesamtaktivität) 0,5 ml der Dextranaktivkohle (33,3%) einpipettiert.

Nach erneutem Schütteln im Vibrationsmischer (3 Minuten) werden die Proben für 15 Minuten stehengelassen und anschließend bei 2.500 Upm (1.530 g) für 10 Minuten zentrifugiert. Ein Aliquot (0,5 ml) des Überstandes wird in je 10 ml Szintillator in verschließbare Glas- bzw. Einmalplastikröhrchen einpipettiert und anschließend die Radioaktivität für je 10 Minuten gemessen.

3. Berechnung der Ergebnisse:

a) Ermittlung der Mittelwerte der cpm abzüglich der Basisaktivität (Basisaktivität des Gerätes ohne Hinzugabe von ^{3}H-Digoxin) = DZR

b) Errechnung der Bindungskapazität des Analysensystems (BK)

$$BK\ (\%) = \frac{DZR_O \times 100}{DZR_T}$$

c) Nun drückt man die DZR des Standards und der Proben als Prozentsatz der DZR_O aus oder bildet den Quotienten aus DZR_O : $DZR_{Std.}$ bzw. DZR_{Proben}

α) B/B_0 (%) Standard $= \frac{DZR_{Std.} \times 100}{DZR_0}$

B/B_0 (%) Proben $= \frac{DZR_{Probe} \times 100}{DZR_0}$

ß) $Reziproke_{Std.} = \frac{DZR_0}{DZR_{Std.}}$

$Reziproke_{Probe} = \frac{DZR_0}{DZR_{Probe}}$

d) Man zeichnet die Eichkurve, indem man $B/B_{oStd.}$ oder $Rez._{Std.}$ gegen die Digoxinkonzentrationen auf Linearpapier (ersteres auch auf Halblogarithmenpapier) einträgt.

e) Die Digoxingehalte der einzelnen Proben können nun in ng aus der Kurve abgelesen werden. Da sie sich auf 0,2 ml des Originalplasmas beziehen, erhält man die Konzentrationen in ng/ml durch Multiplizieren mit 5.

4. Überprüfung der radioimmunologischen Bestimmungsmethode für Digoxin:

a Spezifität des Antikörpers:

Zur Ermittlung der Spezifität des Digoxinantikörpers wird zunächst der Einfluß auf die Bindungskapazität des Antikörpers bei unterschiedlichen Bedingungen, d.h. hormonelle, stoffwechselbedingte oder medikamentöse Veränderungen mit Vorhandensein dem Digoxin strukturähnlicher Substanzen untersucht.

Es werden zur Bestimmung der Bindungskapazität und

unterschiedlicher Digoxinkonzentrationen folgende Plasmaproben verwandt:

a) Plasma bei Hypercholesterinaemie
(♂, 36 Jahre, Serumcholesterin 465 mg%)

b) Plasma zum Ovulationstermin
(♀, 42 Jahre, Ovulationstermin ermittelt an Hand der Basaltemperatur)

c) Praemenstruelles Plasma
(♀, 32 Jahre, 1 Tag vor Beginn der Menses)

d) Plasma eines Patienten unter Prednisolonmedikation
(♀, 30 Jahre bzw. ♂, 32 Jahre, je 10 mg Prednisolon/die oral)

e) Plasma einer gesunden, nicht mit Digoxin behandelten männlichen 4o-jährigen Person

f) Plasma einer Patientin unter Digitoxinmedikation
(♀, 67 Jahre, folgende Digitoxinmedikation:

1. Tag 0,5 mg i.v.	4. Tag 0,5 mg i.v.
2. Tag 0,6 mg i.v.	5. Tag keine Medikation
3. Tag 0,5 mg i.v.	6. Tag Blutentnahme

g) Plasma eines Patienten unter Spironolactonemedikation
(♂, 38 Jahre - Leberzirrhose - 200 mg Spironolactone/die i.v.; ♂, 41 Jahre - Leberzirrhose - 400 mg Spironolactone/die oral).

Ermittelt werden die Ergebnisse aus je Zehnfachbestimmungen und Doppelmessung nach der oben angegebenen unkorrigierten Arbeitsanleitung.

Die Bindungskapazitäten des Digoxin-Antikörpers sind unter Digitoxin und Spironolactonemedikation stark erniedrigt (Abb.: 1). Bei einer Inkubationstemperatur von 2° C gegenüber Raumtemperatur bestätigen sich diese Befunde. Die ermittelten Digoxinkonzentrationen sind durch Interferenz mit dem gleichzeitig vorhandenen strukturähnlichen Digitoxin bzw. Spironolactone bei allen untersuchten Konzentrationen signifikant, bei Digitoxin extrem überhöht (Tab.: 3 + 3 a).

EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER BEDINGUNGEN AUF DIE BINDUNGSKAPAZITÄT DES DIGOXIN–ANTIKÖRPERS (Titer 1 : 500 000)

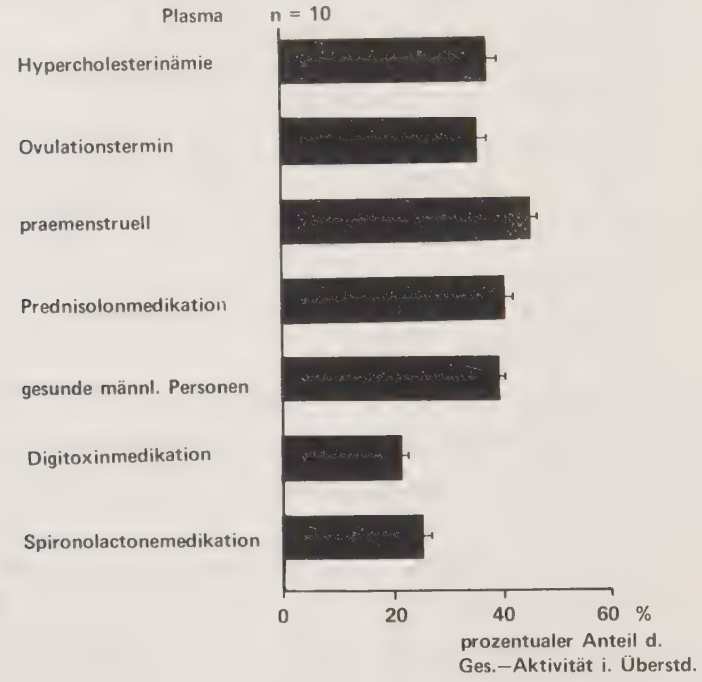


Abbildung: 1

Die Hypercholesterinaemie setzt die Bindungskapazität nicht signifikant herab; demnach wird die Digoxinbestimmung hierdurch nicht beeinflußt (Tab.: 3). Auch unter der Prednisolonmedikation mit 10 mg/die (Blutentnahme 1 Stunde nach Prednisolongabe) ergeben sich keine signifikanten Abweichungen.* Obwohl die Abbildung 1 eine Beeinträchtigung der Bindungskapazität im praemenstruellen Stadium zeigt, ist dennoch bei höheren Digoxinkonzentrationen, wie in Tabelle 3 dargestellt,

* Spätere Untersuchungen unter einer Prednisolonmedikation von 65 mg bei einem 55-jährigen Patienten ergeben ebenfalls keine signifikante Beeinflussung der Digoxinserumkonzentrationen.

Plasma	Digoxinkonzentration ng / ml			mittlere prozentuale Abweichung
Kontrolle	5,0	2,50	1,25	0 %
Hypercholesterinämie	4,31 ± 0,07	2,76 ± 0,08	1,24 ± 0,02	– 1,4 %
Ovulationstermin	4,0 ± 0,15	2,65 ± 0,09	1,20 ± 0,03	– 6,0 %
Praemenstruell	5,0 ± 0,16	2,81 ± 0,09	1,25 ± 0,04	+ 4,1 %
Cortisonmedikation	4,35 ± 0,08	2,35 ± 0,07	1,30 ± 0,02	– 5,0 %
Digitoxinmedikation	> 10,0	9,95 ± 0,18	6,40 ± 0,10	> + 270 %

Tabelle: 3: Beeinflussung der radioimmunologischen Methode durch unterschiedliche Bedingungen bei verschiedenen Ausgangskonzentrationen

Plasma	Digoxinkonzentration ng/ml							mittlere prozentuale Abweichung
Kontrolle	6,0	4,0	3,0	2,5	2,0	1,5	1,0	–
Spironolactone–medikation	7,60	4,96	3,16	2,61	2,25	1,99	1,09	+ 13,5 %

Tabelle: 3a: Beeinflußbarkeit der radioimmunologischen Bestimmung durch Spironolactone

lediglich eine geringfügige nicht signifikante Beeinflussung der Bestimmung festzustellen. Die Verwendung von Serum derselben Kontrollgruppe führt im Vergleich mit Plasma zu identischen Ergebnissen.

Zur Frage von Kreuzreaktionen mit Digoxinderivaten wird im Vergleich zu einer bekannten Digoxinkonzentration mit Hilfe des Digoxinantikörpers eine konstante vorgegebene Konzentration (1,5 ng) verschiedener Digoxinderivate und Digitoxin bestimmt. Die prozentuale Abweichung beträgt:

ß-Acetyldigoxin	- 17,3 %	±	1,5
ß-Methyldigoxin	- 6,0 %	±	2,2
Digoxin-bis-digitoxosid	+ 31,6 %	±	2,2
Digoxin-mono-digitoxosid	+ 42,8 %	±	3,0
Digitoxin	- 78,9 %	±	0,7

Der verwandte Digoxinantikörper ist nicht digoxinspezifisch. Es erfolgt auch eine Bindung des Antikörpers an Digitoxin (SOLOMON 1971; KUNO-SAKAI 1972), Digoxin-bis- und Digoxin-mono-digitoxosid.

Zur Frage der Bindungsfähigkeit des Digoxinantiserums in Verbindung mit dem Antikörpertiter wird festgestellt, daß bei einer Inkubationszeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur und einem Endverdünnungstiter von 1 : 500 000 die mittleren Bindungskapazitäten bei 42,7% (minimal 36,0% bis maximal 51,8%) liegen.

Unter Verwendung radioaktivfreien Plasmas einer gesunden männlichen, nicht mit Digoxin behandelten Person werden (10-fach-Bestimmung und Doppelmessung) Bindungskapazität und Standardkurven (Digoxinkonzentrationen: 0,5; 1,5 und 3,0 ng) bei

Beeinflussung der Bindungskapazitäten des Antikörpers
bei unterschiedlichen Verdünnungen des Antiserums

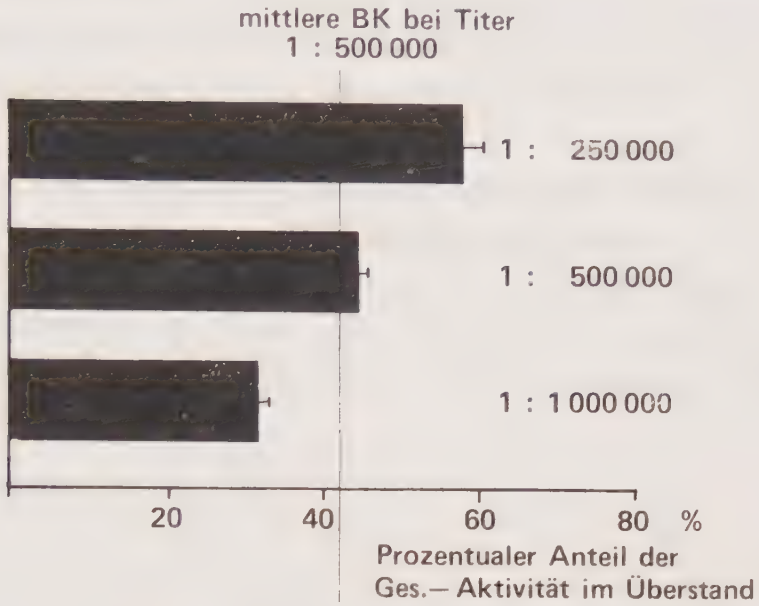


Abbildung: 2

5 Antikörpertiter in der Endverdünnung von

1 : 250 000
1 : 500 000
1 : 1 000 000 ermittelt.

Wie zu erwarten, verändert sich die Bindungskapazität direkt proportional der Antikörperkonzentration (Abb.: 2).

Werden die Standardkurven durch Aufzeichnen der Reziproken ($DZR_o/DZR_{Std.}$) auf der Ordinate gegen die Digoxinkonzentrationen auf der Abszisse dargestellt, so ergeben sich unterschiedliche

Steigungen. Bei einem Antikörpertiter von 1 : 250 000 ist die Steigung sehr flach, entsprechend einer nur geringen Änderung der gemessenen Aktivitäten auch bei großen Differenzen der Digoxinkonzentrationen. Die Steigung beträgt bei einem Titer von 1 : 500 000 etwa 45°; sie wird durch weitere Verdünnung des Antiserums (1 : 1 000 000) nicht signifikant verändert.

EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER ANTIKÖRPERTITER

AUF STEILHEIT DER STANDARDKURVE

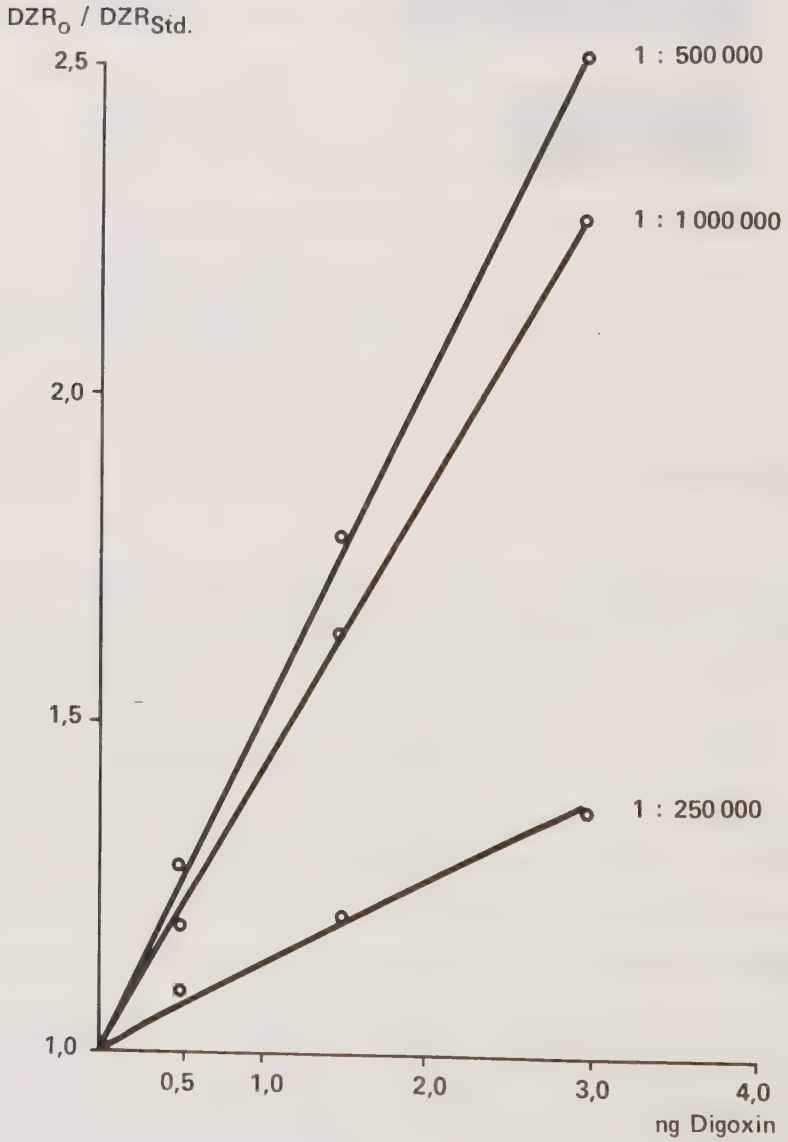


Abbildung: 3

Auffallend ist jedoch die zunehmende Ergebnisschwankung der gemessenen Aktivitäten
(1 : 500 000: s ± 5,6%
1 : 1 000 000: s ± 14,8%) (Abb.: 3).

Zur Erstellung einer Sättigungskurve des Digoxinantikörpers wird mittels Biuret die Eiweißkonzentration des Antiserums bestimmt. Es wird eine Verdünnungsreihe einer Albuminlösung mit 8, 6, 4, 2 und 1 mg Albumin hergestellt und der Eiweißkonzentration des Antiserums gegenübergestellt. Eine Antikörper-Eiweiß-Konzentration von 3,5 mg/ml entsprechend einem Antikörpertiter in der Endverdünnung von 1 : 200 000 wird mit ca. 25 ng Digoxin abgesättigt. (Abb.: 4).

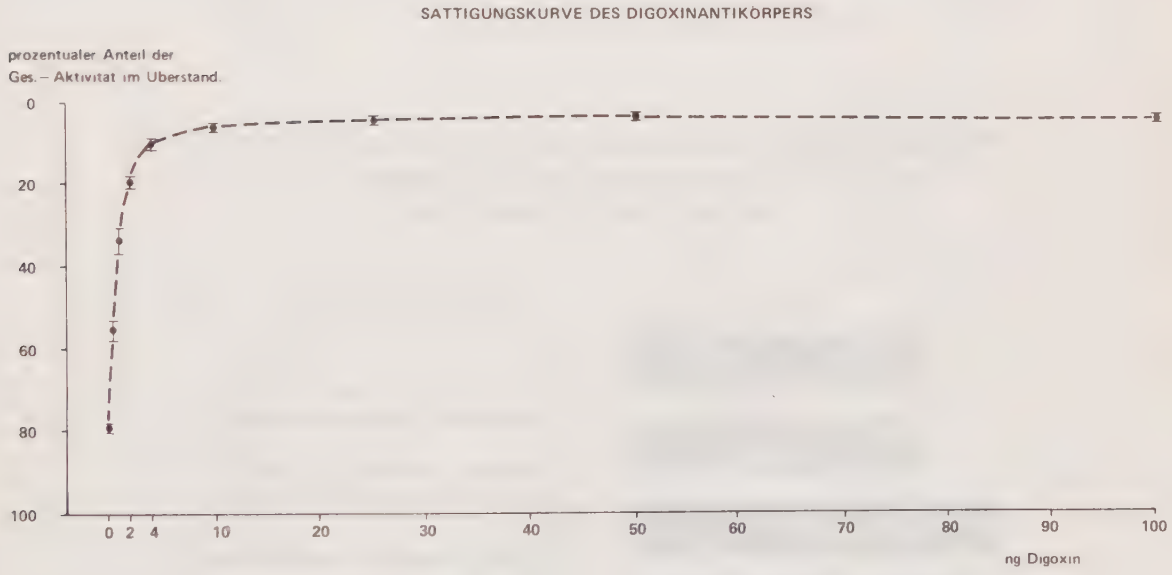


Abbildung: 4

b Inkubation:

Zur weiteren Überprüfung der radioimmunologischen Digoxinkonzentrationsbestimmung werden die Einflüsse unterschiedlicher Inkubationsbedingungen auf die Bindungskapazität des Digoxinantikörpers untersucht.

Zunächst wird die Abhängigkeit von der Inkubationszeit und der Temperatur während der Inkubation ermittelt. Verwandt wird Plasma einer gesunden männlichen, nicht mit Digoxin behandelten Person. Die Inkubationsvolumina werden jeweils bei Raumtemperatur (22° C) und bei 2° C im Kühlschrank für unterschiedliche Zeiten (von 10 Minuten bis maximal 24 Stunden) inkubiert. Durch Dreifachbestimmung und Doppelmessung werden die Bindungskapazität und die Änderung der Standardkurven (Digoxinkonzentrationen: 0,5; 1,25; 2,5 ng) ermittelt.

BEEINFLUSSUNG D. BINDUNGSKAPAZITÄT DES ANTIKÖRPERS BEI UNTERSCHIEDLICHER INKUBATIONSZEIT UND INKUBATIONSTEMPERATUR.

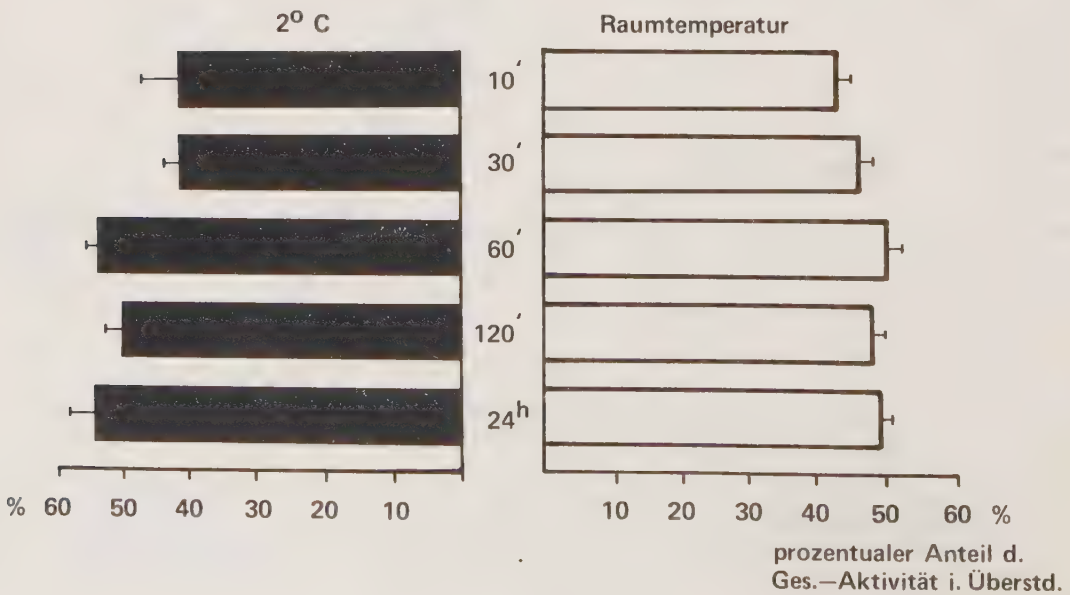


Abbildung: 5

Wie aus Abbildung 5 ersichtlich, wird die Bindungskapazität, unabhängig von der Temperatur, durch Verlängerung der Inkubationszeit auf 60 Minuten erhöht. Eine längere Inkubationszeit verbessert die Bindungskapazität nicht mehr.

Die Steigung der Standardkurven (Reziproke gegen Digoxinkonzentrationen), erstellt aus den Mittelwerten der beiden gewählten Temperaturen, ist weitaus flacher bei einer Inkubationszeit von 10 und 30 Minuten gegenüber der bei 60 Minuten. Eine weitere Verlängerung der Inkubationszeit mindert wiederum den Steigungswinkel (Abb.: 6).

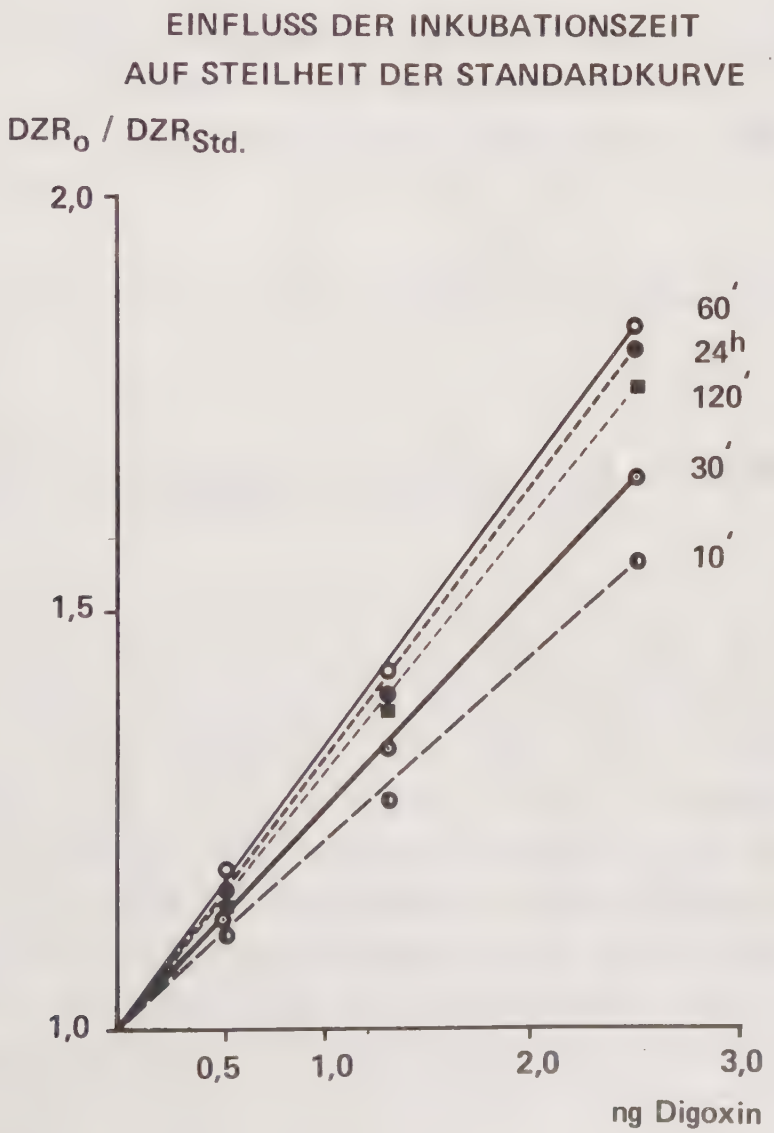


Abbildung: 6

Bei identischer Inkubationszeit von 6o Minuten und damit gleicher prozentualer Bindungskapazität wird jetzt mittels Dialyse die Festigkeit des Antigen-Antikörperkomplexes in Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur ermittelt (Tabelle 4).

Temp.	Inkubation + Dialyse	2° C	22° C
Impulse	vor Dialyse	1844,0	1832,0
	nach Dialyse (48h)	828,4 (44,9%)	301,5 (16,5%)
BK	vor Dialyse	50,2%	49,8%
	nach Dialyse (48h)	22,6%	8,2%

Tabelle 4: Bindungsfestigkeit des Antigen-Antikörperkomplexes in Abhängigkeit von der Temperatur.

Bei einer Inkubationstemperatur von 22° und 2° C werden nach Beendigung der Zentrifugation je 1 ml des Überstandes gegen 100 ml physiologische NaCl-Lösung + 5% Alkohol bei identischen Temperaturen dialysiert. Die Dialyse erfolgt in Dialysesäckchen für 48 Stunden (Wechsel des Außenmediums nach 24 Stunden). Angegeben wird der im Dialysat verbleibende prozentuale Anteil der Anfangsaktivität. Wie aus Tabelle 4 zu entnehmen, ist der Antigen-Antikörperkomplex bei 22° C instabiler, erkennbar an einer scheinbaren Minderung der Bindungskapazität auf etwa 1/6 des Ausgangswertes gegenüber

Reduzierung auf die Hälfte bei einer Temperatur von 2° C.

c Trennung:

Der mögliche Einfluß unterschiedlicher Trennmethoden auf den Digoxin-Antigen-Antikörperkomplex wird wie folgt überprüft. Zunächst wird ermittelt, inwieweit mit anderen Trennmethoden als der bisher verwandten Dextranaktivkohle eine ausreichende Trennung von Antigen und Antigen-Antikörperkomplex erreicht werden kann. Das Abgehen von Dextranaktivkohle wird erwogen wegen der trotz konstanter Temperaturbedingungen nicht erkennbaren, eventuell variablen Partikelgröße der Aktivkohle und damit unterschiedlicher Bindung des Antigens (HERBERT 1965).

Es wird eine 22,5%ige Na-Sulfitlösung hergestellt und davon 0,5 bzw. 1,0 ml zu dem Inkubationsvolumen von 1,0 ml hinzugegeben. Durch anschließende Zentrifugation für 10 Minuten bei 2500 Upm (1530 g) kann nur ein minimaler, leicht auflösbarer Bodensatz bei Verwendung von Na-Sulfit gegenüber dem bei Zugabe von Dextranaktivkohle (33,3%) gewonnen werden. Eine ausreichende Trennung kann daher nicht erzielt werden. Auch bei Erhöhung der Antikörperkonzentration, Verlängerung der Inkubationszeit sowie Verlängerung der Zentrifugationszeit auf 30 Minuten und Erhöhung der Umdrehungszahl auf 3500 Upm (3400 g) bleibt der Bodensatz instabil. Ein hoher prozentualer Anteil der Gesamtaktivität wird im Überstand gemessen und die Aktivitäten schwanken um 20 bis 30 %. Ferner gelingt es nicht trotz stufenweiser Änderung der Konzentration der Na-Sulfitlösung (2,0 bis 45,0%) oder

Verwendung eines anderen Szintillators (Instagel; Aquasol; Toluol + BBS 3; Dioxan + 0,5 ml Zephirol) die Trübung der Proben nach Zugabe des Szintillators zu beseitigen.

Alle Proben, die gleichzeitig Antiserum enthalten, werden bis auf die mit 2%iger Na-Sulfitlösung (0,1 ml) und Instagelszintillator sofort trüb, letztere erst nach 10 Minuten. Die Proben mit Toluolszintillator sind zwar in Ruhe klar, zeigen aber einen deutlichen Trennungsring und werden bei Schütteln der Proben sofort wieder trüb. Der im alkalischen Bereich liegende pH-Wert der Na-Sulfitlösung (pH 9,95) kann für die Trübung nicht angeschuldigt werden. Nur bei gleichzeitigem Vorhandensein von Antiserum tritt eine Trübung auf.

Als weitere Möglichkeiten zur Trennung der Einzelfraktionen werden Alkohol (32,0%) und Dioxan (33,3%) überprüft. Eine Trennung gelingt nicht, d.h. keine Minderung der prozentualen Aktivität im Überstand gegenüber der Gesamtaktivität. Eine Trübung nach Zugabe des Szintillators wird nur mit Dioxan vermerkt. Bei Verwendung von Propylenglykoll (33,3%) kann ebenfalls keine Trennung erzielt werden. Nach Zugabe von Instagelszintillator bleibt die Probe klar, es bildet sich aber ein deutlicher Trennungsring. Zusammenfassend ist daher festzustellen, daß keine der von uns untersuchten Trennungsmethoden bei ^{3}H-Markierung des Antigens angewandt werden können.

Die totale Absorption der verwandten Dextranaktivkohle für das radioaktive Digoxin unter Standardbedingungen und in Abwesenheit von Antikörper liegt bei 98,3% $\pm$ 3,5. Dieser Wert entspricht dem von GROSSE-BROCKHOFF et al. (1973) angegebenen Prozentsatz von 97% unter Verwendung derselben Substanzen.

Als nächstes wird der Einfluß unterschiedlicher

Dextranaktivkohlekonzentrationen auf die Festigkeit der Bindung des Digoxinantikörpers an das Antigen geprüft. Eine Erhöhung der Konzentration der Dextranaktivkohle von 33,3 auf 50% entsprechend der Zugabe von 1,0 anstatt 0,5 ml der Suspension (Trockensubstanz + 30 ml Phosphatpuffer) zu einem Inkubationsvolumen von 1,0 ml erniedrigt die Bindungskapazität des Digoxinantikörpers von 45,0% auf 35,8% Dementsprechend vermindert sich der prozentuale Anteil der Gesamtaktivität im Überstand bei Erstellung der Standardkurven mit Digoxinkonzentrationen von 0,5 bis 8,0 ng (Dreifachbestimmung bei allen gewählten 9 Digoxinkonzentrationen; Doppelmessungen).

Bei 1,5 ng Digoxin ergeben sich z.B. gegenüber der Gesamtaktivität von 1355 bzw. 1358 cpm nach Zugabe von Dextranaktivkohle in einer Konzentration von 33,3% 411,0 cpm; bei 50,0% nur 332,2 cpm (Abb.: 7).

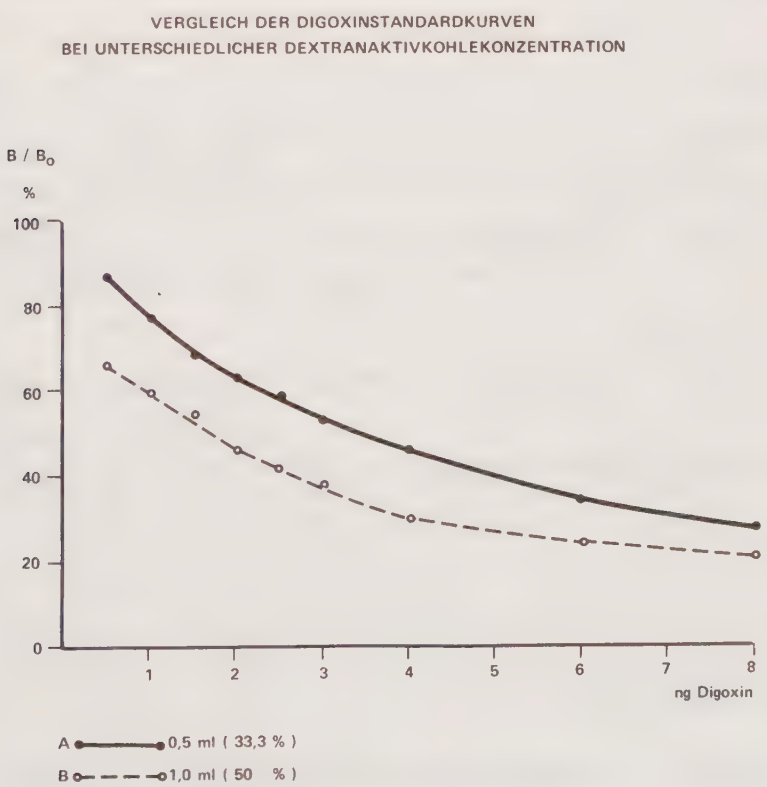


Abbildung: 7

Die Bindungskapazität des Digoxinantikörpers kann, wie gezeigt, durch Erhöhung der Antiserumkonzentration und Verlängerung der Inkubationszeit verbessert werden. Ferner wird durch Erniedrigung der Inkubationstemperatur die Stabilität des Antigen-Antikörper-Komplexes vergrößert. Trotzdem ist bei der starken Absorptionskraft der Dextranaktivkohle zu erwarten, daß mit zunehmender Dauer der Einwirkung der Aktivkohle Antigen aus dem Antigen-Antikörperkomplex wieder freigesetzt wird, d.h. eine anscheinende Minderung der gemessenen Bindungskapazität. Zur Abklärung wird die Zeitdifferenz zwischen Zugabe von Dextranaktivkohle nach der Inkubation und Beginn der Zentrifugation variiert.

BEEINFLUSSUNG DER BINDUNGSKAPAZITÄT DES ANTIKÖRPERS IN ABHÄNGIGKEIT VON DER ZEITDIFFERENZ ZWISCHEN ZUGABE VON DEXTRANAKTIVKOHLE UND ZENTRIFUGATIONSBEGINN.

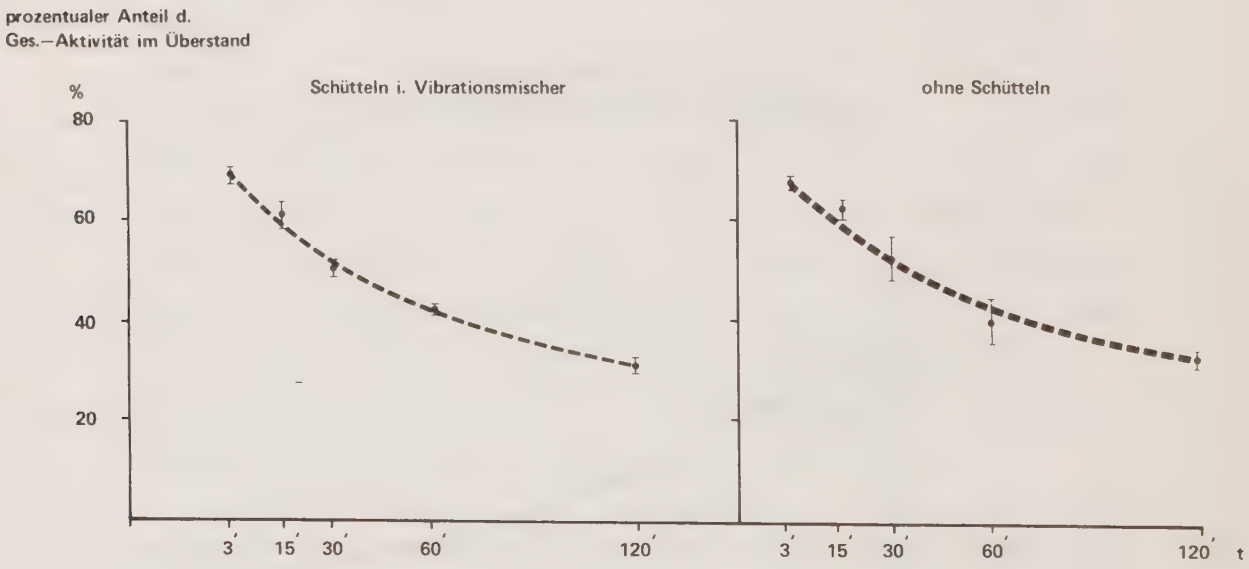


Abbildung: 8

Mittels Dreifachbestimmungen und Doppelmessungen werden nach 3; 15; 30; 60 und 120 Minuten Einwirkzeit der Aktivkohle der prozentuale Anteil der Gesamtaktivität im Überstand des Nullwertes gemessen. Gleichzeitig wird der Einfluß der

vorangegangenen Mischung zwischen Inkubationsvolumen und Trennungsmittel im Vibrationsschüttler durch zeitlich parallellaufende Kontrollgruppen ermittelt.

Es ergibt sich eine signifikante Minderung der Bindungskapazität des Digoxinantikörpers direkt proportional zu der Zeitspanne zwischen der Zugabe von Dextranaktivkohle und Zentrifugation (MEADE 1972). Innerhalb der ersten 30 Minuten nimmt die Bindungskapazität schnell ab, insgesamt innerhalb von 120 Minuten auf 44% des Ausgangswertes . Ohne verangegangenes Schütteln der Proben im Vibrationsmischer ergeben sich darüber hinaus stark schwankende Aktivitäten (Abb.: 8).

d Zentrifugation:

Zur Ermittlung des Einflusses unterschiedlicher Zentrifugationsbedingungen auf die Bindungskapazität des Digoxinantikörpers werden Zentrifugationszeit, Zentrifugationstemperatur und Umdrehungszahl variiert.

Keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse werden ermittelt, wenn:

α) die Zentrifugationszeit von 10 Minuten und 30 Minuten bei 2500 Upm (Abb.: 9) verlängert wird und

ß) bei konstanter Zentrifugationszeit die Zentrifugationstemperatur verändert wird, und zwar von 30° C auf 20° C und

y) alle drei Zentrifugationsbedingungen

(Zeit, Umdrehungszahl und Temperatur) gleichzeitig geändert werden.

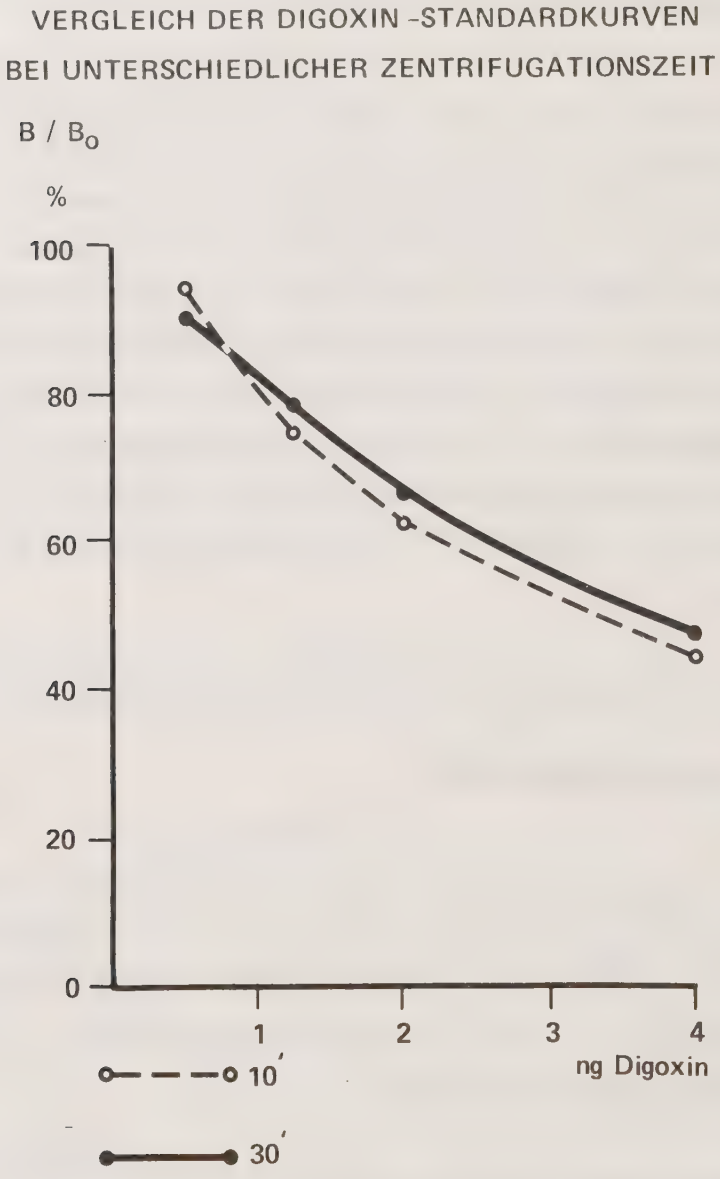


Abbildung: 9

e Szintillatoren

Hinsichtlich Ausbeute und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse werden unterschiedliche Szintillatoren überprüft. Im Vergleich zu Instagel ergeben sich bei Verwendung anderer handelsüblicher Szintillatoren

α) Aquasol
ß) Toluol

identische Radioaktivitätsmessungen.
Auch bei Anwendung von Serum gegenüber Plasma einer gesunden männlichen nicht mit Digoxin behandelten Person und bei Anwesenheit Digoxinstrukturähnlicher Substanzen ergeben sich keine Abweichungen für Gesamtaktivität, Bindungskapazität und Standardkurven bei Digoxinkonzentrationen von 0,5 bis 2,5 ng. Bei Aquasol werden aber die Proben nach längerem Stehen trüb.

f Beständigkeit des ^{3}H-Digoxin:

Die Beständigkeit des tritiummarkierten Digoxins wird in Abhängigkeit von der Zeit dünnschichtchromatographisch untersucht.

In 2- bis 4-tägigen Abständen für insgesamt 15 Tage werden jeweils 0,1 ml (mehrmaliges Auftragen unter Zuhilfenahme des Föhns) der mit 4,5 ml Phosphatpufferlösung verdünnten äthanolischen Lösung des ^{3}H-Digoxins auf Dünnschichtplatten punktförmig, 1,5 cm vom unteren Plattenrand entfernt aufgetragen, ebenso das nicht markierte Digoxin (Reinsubstanz). Das letztere wird in einer Äthanol/Chloroformlösung (4 : 1) gelöst. Die Dünnschichtplatten werden mit 100 g Kieselgel + 80 g Aqua bidest. bestrichen. Als Fließmittel wird Essigester benutzt.

Unmittelbar nachdem das Fließmittel im 3.

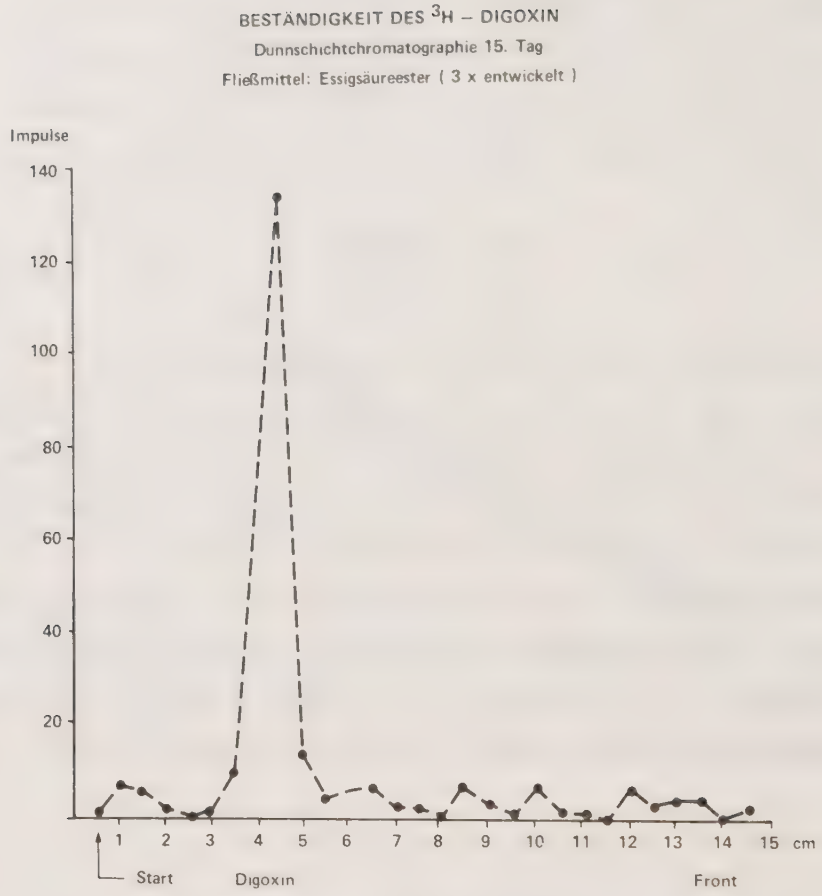


Abbildung: 10

Entwicklungsgang die Front des 1. Laufes erreicht hat, werden die Platten für 10 Minuten im Trockenschrank auf 110° C erhitzt. Währenddessen wird das Sprühreagenz angesetzt (20% Trichloressigsäure in Chloroform), in ein Sprühgefäß eingefüllt und vorsichtig über die getrocknete Schicht zerstäubt. Nach nochmaliger Erhitzung im Trockenschrank färbt sich Digoxin in einer Fließhöhe von 3,5 bis 4,5 cm (rF ungefähr 0,30) fleckförmig braun-grünlich an.

Da die Aktivität des aufgetragenen ^{3}H-Digoxins für Scannmessungen zu gering ist, wird mit Hilfe einer 2,0 cm breiten Schablone das Kieselgel in 0,5 cm Abständen heruntergeschabt. Das dabei gewonnene Pulver wird direkt in Tricarb-Meßfläschchen gegeben und mit 2,0 ml Instagelszintillator versetzt

und anschließend die Radioaktivität gemessen. Nach Abzug der Basisradioaktivität (2 ml Szintillator) von den Mittelwerten der gemessenen Radioaktivitäten werden die so ermittelten Werte auf Millimeterpapier aufgetragen. Dabei ergibt sich, daß auch nach 15 Tagen nur 1 Peak nachzuweisen ist, der als ^{3}H-Digoxin identifiziert wird (Abb.: 10).

d Reproduzierbarkeit:

Hierzu werden die prozentualen Abweichungen der Gesamtergebnisse ermittelt.

In einem Zeitraum von 4 Monaten (n= 29) ergibt sich unabhängig von Inkubationszeit und -temperatur sowie von benutztem Serum bzw. Plasma und

Inkubationsbedingungen				n	BK (%)	± S (%)
Antikörpertiter	1:500 000	Kontrollplasma				
		t 30'	22° C	3	41,5	9,2
			2° C	6	43,7	11,9
		t 60'	22° C	1	50,5	–
			2° C	6	48,1	12,7
		lyophil. Humanserum				
		t 60'	2° C	5	42,8	8,9
	1:450 000	lyophil. Humanserum				
		t 60'	2° C	7	61,0	2,9

Tabelle: 5: Einfluß unterschiedlicher Inkubationsbedingungen auf die Bindungskapazität

Szintillator bei einer mittleren Impulszahl der Gesamtaktivität von 1377,9 cpm eine Streuung von ± 6,9%.

Wie aus Tabelle 5 zu entnehmen, kann die Reproduzierbarkeit der Bindungskapazitäten durch Erhöhung der Antikörperkonzentrationen, Verlängerung der Inkubationszeit, Erniedrigung der Inkubationstemperatur und Benutzung von lyophilisiertem Humanserum deutlich gebessert werden (s ± 2,9%).

Die Standardkurven sind nahezu identisch (s ± 3,4%) bei willkürlicher Auswahl von 3 Untersuchungstagen (Abb.: 11). Die Standardabweichungen der Radioaktivitätsmessungen liegen bei jeder Dreifachbestimmung und Doppelmessung bei ± 3,1 bis 3,4%.

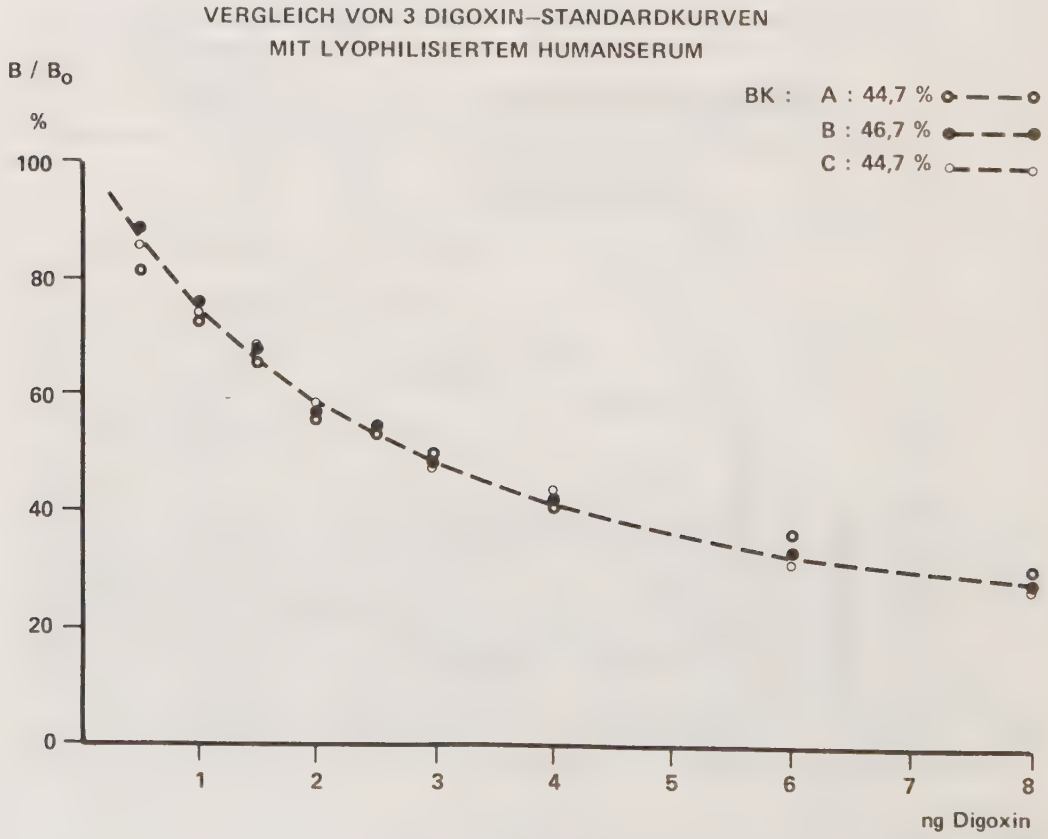


Abbildung: 11

Der Steigungswinkel der Standardkurve liegt bei Verwendung lyophilisierten Humanserums, einem Antikörpertiter in der Endverdünnung von 1 : 450 000, einer Inkubation für 60 Minuten bei 2° C und Trennung mit 0,5 ml Dextranaktivkohlesuspension bei über 45° (Abb.: 12).

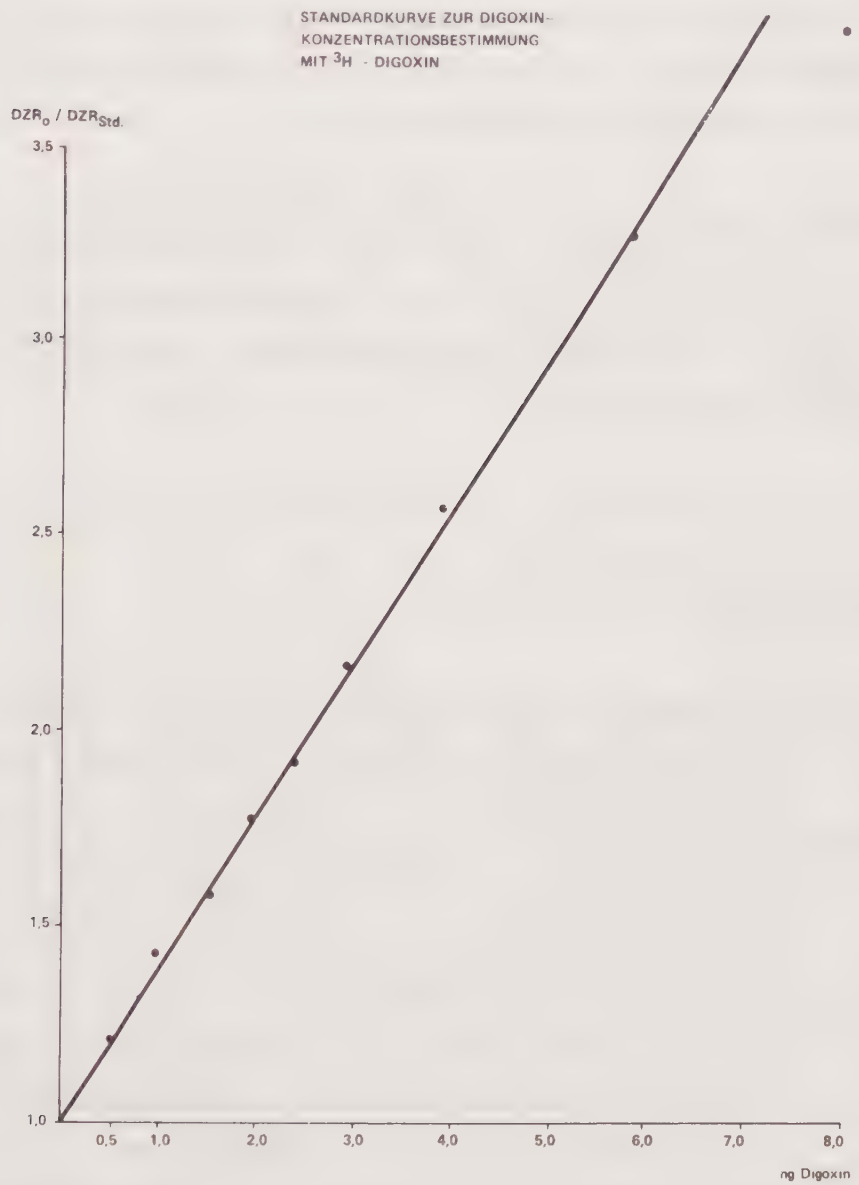


Abbildung: 12

Bei nacheinander erfolgten Messungen ergeben sich bei Verkürzung der Meßzeit von 10 Minuten (n = 25; s ± 2,14%) auf 4 Minuten (n = 25; s ± 2,46%) keine größeren Differenzen der Meßergebnisse. Bei einem Vergleich der Einzelaktivitäten für eine Meßzeit von 10 Minuten bei der ersten Messung und 4 Minuten beim zweiten Durchgang liegt die Abweichung bei ± 2,0%. Die Verkürzung der Meßzeit geht insgesamt nicht zu Lasten der Reproduzierbarkeit und Genauigkeit der Ergebnisse.

Durch Erhöhung der Inkubationstemperatur von 2° C auf Raumtemperatur (22° C) wird die Schwankungsbreite der gemessenen Digoxinkonzentrationen (n = 5) erhöht. Die Werte liegen zwischen 1,25 und 1,95 ng/ml (Mittelwert 1,51).

h Schlußfolgerungen:

1.) Zusammenfassend resultiert aus den Überprüfungen jedes einzelnen Teilschrittes der radioimmunologischen Meßmethode zur Bestimmung von Digoxinkonzentrationen vorrangig die Erkenntnis, daß bereits geringe Variationen hinsichtlich des verwandten Materials sowie Unterschiede von Zeitabläufen und Temperatur die ermittelte Digoxinkonzentration und deren Reproduzierbarkeit erheblich verändern können. Dagegen beeinflußt die Verwendung von Patientenplasma die Methode nicht, bringt aber gegenüber Serum keine Vorteile.

2.) Störungen (endogene oder exogene) des steroidalen Hormonhaushaltes verändern die gemessenen Digoxinkonzentrationen nicht. Bei gleichzeitiger

oder vorangegangener Spironolactone- oder Digitoxintherapie wird die Methode jedoch beeinflußt, so daß die gemessenen Digoxinkonzentrationen nicht mit Sicherheit zu verwerten sind.

3.) Aus dem obigen Absatz ist zu entnehmen, daß zur Erstellung der Standardkurve die Verwendung von lyophilisiertem Humanserum dem eines Kontrollplasmas vorzuziehen ist.

4.) Die Antiserumkonzentration mit einem Antikörpertiter von 1 : 450 000 ist vorzuziehen wegen der erreichten Bindungskapazität von ca. 60% bei optimalem Steigungswinkel der Standardkurve und der Reproduzierbarkeit der Befunde.

5.) Die Verlängerung der Inkubationszeit auf 60 Minuten trägt zur prozentualen Verbesserung der Bindungskapazität bei. Eine noch längerfristige Inkubationszeit bringt keine weitere Erhöhung der Bindungskapazität. Der Antigen-Antikörperkomplex hat sich bei einer Inkubationstemperatur von ca. 22° C (Raumtemperatur) als instabiler als bei 2° C erwiesen. Die Inkubation im Kühlschrank ist deshalb vorzuziehen.

6.) Da bei den bisher untersuchten Trennmethoden (Dioxan, Alkohol, Na-Sulfit und Propylenglykoll) keine ausreichende Trennung erzielt werden kann, erfolgt weiterhin trotz der bekannten Nachteile die Verwendung von Dextranaktivkohle. Die Konzentration von 33,3% wird beibehalten, um eine zu starke Minderung der Bindungskapazität bei der starken Absorptionskraft der Aktivkohle für Digoxin zu vermeiden. Bei deutlich negativem Einfluß einer nicht optimalen

Mischung zwischen Inkubationsvolumen und Trennungsmittel auf die Standardabweichungen sollen die Proben nach Zugabe von Dextranaktivkohle im Vibrationsmischer geschüttelt werden. Wegen des starken Nachlassens der Bindung abhängig von der Einwirkzeit der Aktivkohle wird

α) die Dextranaktivkohle innerhalb von 3 Minuten in alle Proben einpipettiert. Wenn dies nicht möglich ist, wird die Inkubationszeit kurz über 60 Minuten hinaus verlängert (wie oben gezeigt ohne Einfluß auf die Bindungskapazität).

ß) die Mischzeit auf maximal 3 Minuten beschränkt,

γ) sofort nach Beendigung des Schüttelns der Proben mit der Zentrifugation begonnen.

7.) Die Zentrifugation soll bei Zimmertemperatur und 2 500 Upm (1 530 g) 10 Minuten lang erfolgen. Die Verlängerung der Zentrifugationszeit, Erhöhung der Umdrehungszahl oder Verminderung der Temperatur während der Zentrifugation sind nicht erforderlich.

8.) Die drei überprüften, handelsüblichen Szintillatoren zeigen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Ausbeute und Reproduzierbarkeit. Es ist vertretbar, um die Bestimmungszeit der Digoxinkonzentrationen zugunsten der Dienstleistung (schnelle Beantwortung der klinischen Fragestellung) zu verkürzen, die Radioaktivitätsmeßzeit auf 4 Minuten zu beschränken.

5. Modifikation der Methode:

Die Modifikation der Methode ist in der Tabelle 6 dargestellt.

		N	T	O	S_{1-10}	P_x
Puffer	ml	0,7	1,2	0,6	0,5	0,6
lyophil. Humanserum	ml	0,2	0,2	0,2	0,2	-
Std.-Digoxin	ml	-	-	-	0,1	-
Pat.-Plasma	ml	-	-	-	-	0,2
^{3}H-Digoxin	ml	-	0,1	0,1	0,1	0,1
Antiserum	ml	0,1	-	0,1	0,1	0,1
3 ' Vibrationsmischer - anschließend 60' Inkubation bei 2° C						
Dextran-aktivkohle	ml	0,5	-	0,5	0,5	0,5
3 ' Vibrationsmischer; 10 ' Zentrifugation bei 1530 g						
Uberstd. in 10 ml Szintillator	ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Aktivitätsmessung (Doppelmessung je 4 Minuten)						

N = Basisaktivität
T = Gesamtaktivität
O = Nullwert
S_{1-10} = Standardproben 0,5 - 10,0 ng Digoxin
P_x = Pat.-Plasma

Tabelle 6: Zusammenfassende Darstellung der angewandten Methode.

6. Patientenmaterial, pharmazeutische Präparate, klinische Bezugsgrößen und Bedingungen:

Die Serumdigoxinkonzentrationsbestimmung erfolgt bei Patienten aller Altersgruppen unter einer Digitaliserhaltungsdosis 24 Stunden (minimal 14 Stunden) nach der letzten Medikation mit Digoxin oder zumeist ß-Acetyldigoxin oral - in der Regel morgens nüchtern. Beachtet werden die individuelle Digitalisvormedikation unter Berechnung eines Wirkspiegels *, ferner Körpergröße und Gewicht, Zeichen einer Herzinsuffizienz sowie zusätzliche Medikationen oder hormonelle bzw. stoffwechselbedingte Veränderungen insbesondere bei Anwesenheit digoxinstrukturähnlicher Substanzen im Blut und Beeinträchtigung der Schilddrüsenfunktion.

Überprüft werden die individuelle Digitaliswirkung möglicherweise beeinflussende Faktoren (Kalium, Calcium, p_H, Gesamteiweiß und Hämoglobin) unter besonderer Beachtung der Elimination über Leber und Niere (Thromboplastinzeit, alkalische Phosphatase, Kreatinin/S. bzw. Kreatininclearance).

Zum Zeitpunkt der Blutentnahme erfolgt eine EKG-Kontrolle. Aus diesem Befund wird im Zusammenhang mit den Angaben des Patienten hinsichtlich gastrointestinaler oder ophthalmologischer richtungsweisender

* Zur Berechnung des Wirkspiegels werden die in unserem Bereich geltenden und empirisch bestätigten Größen genommen, d.h. 80% Resorption für Digoxin, 90% für ß-Acetyldigoxin und 100% für ß-Methyldigoxin und Digitoxin; als Abklingquoten 20% für das Digoxin und ß-Acetyldigoxin; 17% für ß-Methyldigoxin und 7% für Digitoxin.

Symptome eine fragliche Digitalisintoxikation registriert und gegebenenfalls durch Angaben über überhöhte Dosis, Beeinträchtigung der Elimination und berechnetem Wirkspiegel erhärtet.

III. Ergebnisse:

1. Blutspiegel bei oraler Erhaltungstherapie:

Die Digoxinserumkonzentration liegt bei einer Erhaltungstherapie von 0,4 mg ß-Acetyldigoxin täglich bei 15 untersuchten Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz im Bereich von 1,49 $\pm$ 0,08 ng/ml. Diese Werte sind 24 Stunden nach der Tabletteneinnahme ermittelt worden.

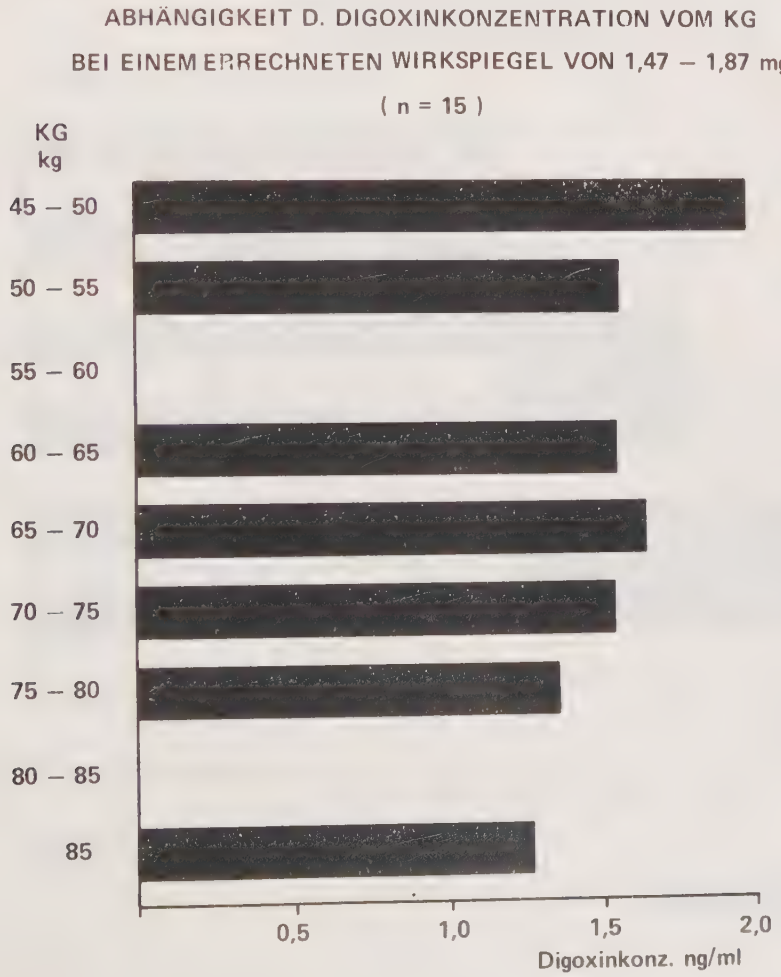


Abbildung: 13

Die Schwankungsbreite beträgt 1,25 bis 1,94 ng/ml. Die individuelle Schwankung ergibt sich (n = 10) mit rund 5%. Erwartungsgemäß ist die Höhe der Blutkonzentration vom Körpergewicht abhängig. Die Abbildung 15 zeigt diese Abhängigkeit im Rahmen eines Wirkspiegels von 1,47 bis 1,87 mg; d.h. innerhalb des für die Herzglykosidtherapie allgemein angegebenen wirksamen Bereiches. Die Beziehung der Blutkonzentration zum Körpergewicht bei der

Abhängigkeit der Digoxinplasmakonzentration vom Körpergewicht bei einer Erhaltungsdosis von 0,4 mg β Acetyldigoxin / die. Jeder Punkt stellt den x̄ von 3 - 6 Bestimmungen bei jeweils einem Patienten dar.
Kreatinin / S. < 1,3 mg %

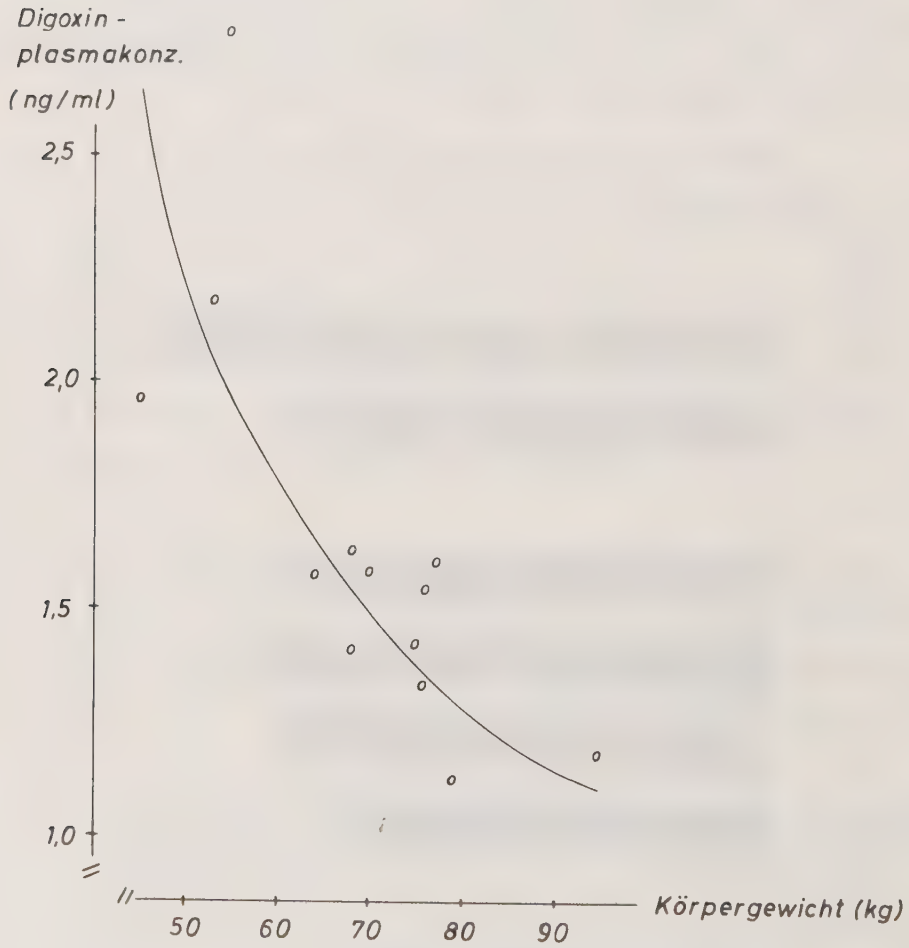


Abbildung: 14

Patientengruppe mit einem Serumkreatinin unterhalb von 1,3 mg/100 ml zeigt, wie die Abbildung 14 darstellt, eine exponentiale Kurve mit negativem Verlauf. Die Korrelation ist signifikant ($r = -0,77$). Bemerkenswert ist, daß die Standardabweichung der Blutkonzentration (y) in etwa der des Körpergewichtes (x) entspricht (20% bzw. 29% von $\bar{y}$ bzw. $\bar{x}$).

Die Dosis-Blutkonzentrationsbeziehung ist in der Abbildung 15 dargestellt. Mit zunehmender Dosis steigen die Serumkonzentrationen an, wobei die Abhängigkeit einen exponentiellen Verlauf etwa wie oben zu haben scheint. Die Korrelation ist aber um so deutlicher, wenn die Dosis auf kg Körpergewicht bezogen wird. In der Abbildung 16

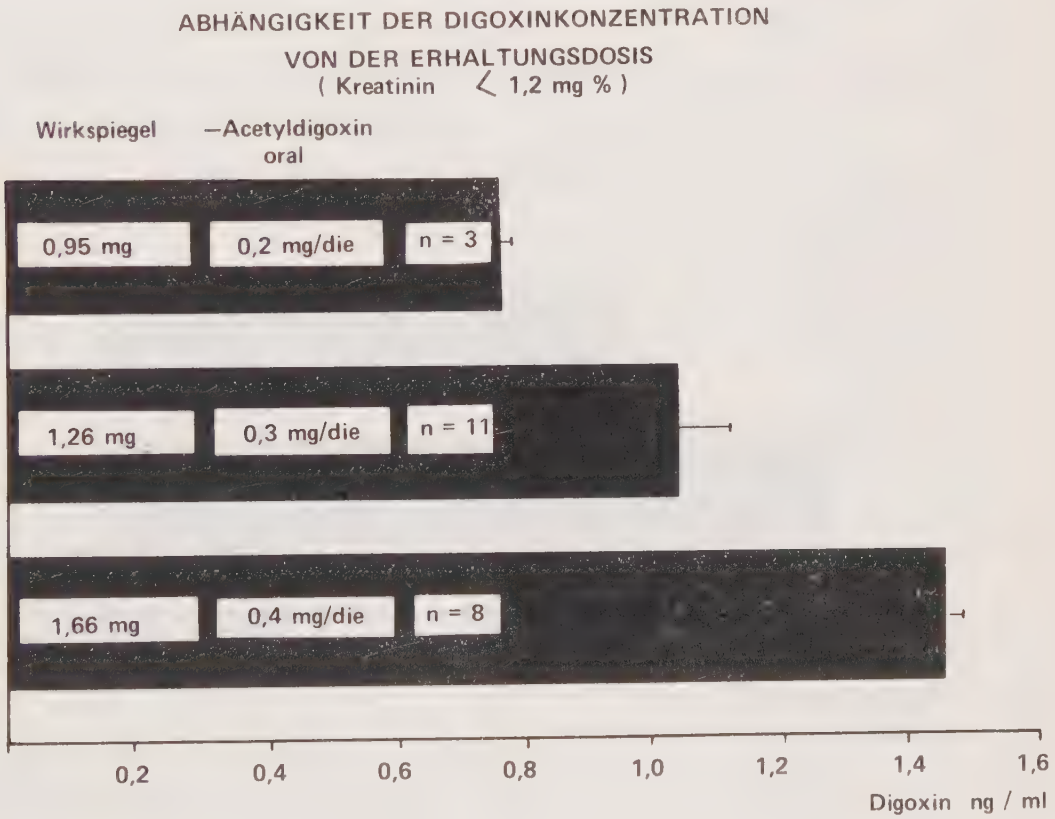


Abbildung: 15

sind die Blutkonzentrationen in Abhängigkeit zur Dosis pro kg bei allen der untersuchten nierengesunden Patienten, die die obigen cardialen Bedingungen erfüllen und unter einer Erhaltungstherapie stehen, dargestellt. Bei jedem dieser Patienten ist mindestens an drei verschiedenen Tagen die Digoxinplasmakonzentration stets 24 Stunden nach der letzten Einnahme bestimmt worden. Daraus ist zu entnehmen, daß hierdurch eine lineare Regression

Abhängigkeit der Digoxinplasmakonzentration von der auf Körpergewicht bezogenen oralen Erhaltungsdosis
Jeder Punkt stellt den $\bar{x}$ von 3-6 Bestimmungen bei jeweils einem Patienten dar.

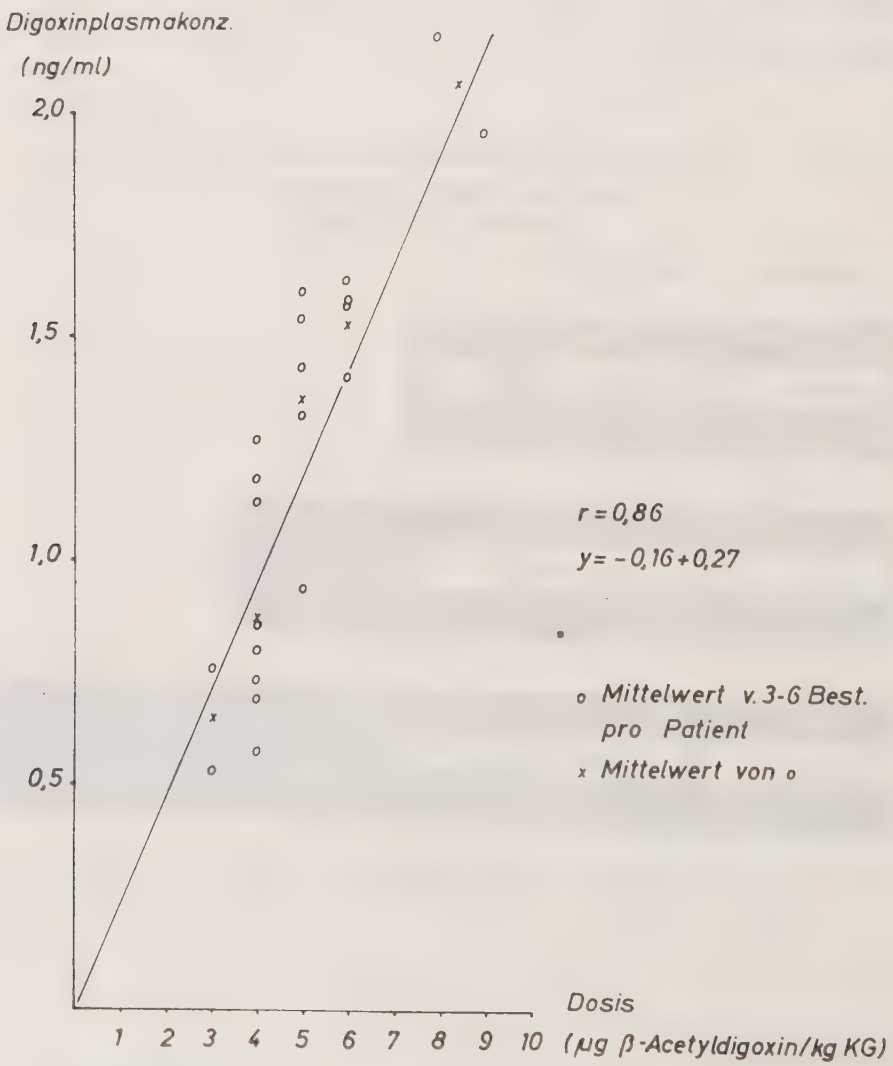


Abbildung: 16

entsteht ($y = -0,16 + 0,27$; $r = 0,86$; $p < 0,001$), die die Annahme zuläßt, daß ab 9 µg ß-Acetyldigoxin pro kg Körpergewicht die Serumkonzentrationen die Grenze von 2,0 ng/ml überschreiten bzw. unter 6 µg pro kg Körpergewicht die von 1,4 ng/ml unterschreiten.

2. Digoxinserumkonzentration bei Einschränkung der Elimination:

Die verzögerte Elimination durch Einschränkung der glomerulären Funktion erhöht die Digoxinserumkonzentration. Bereits bei noch als normal

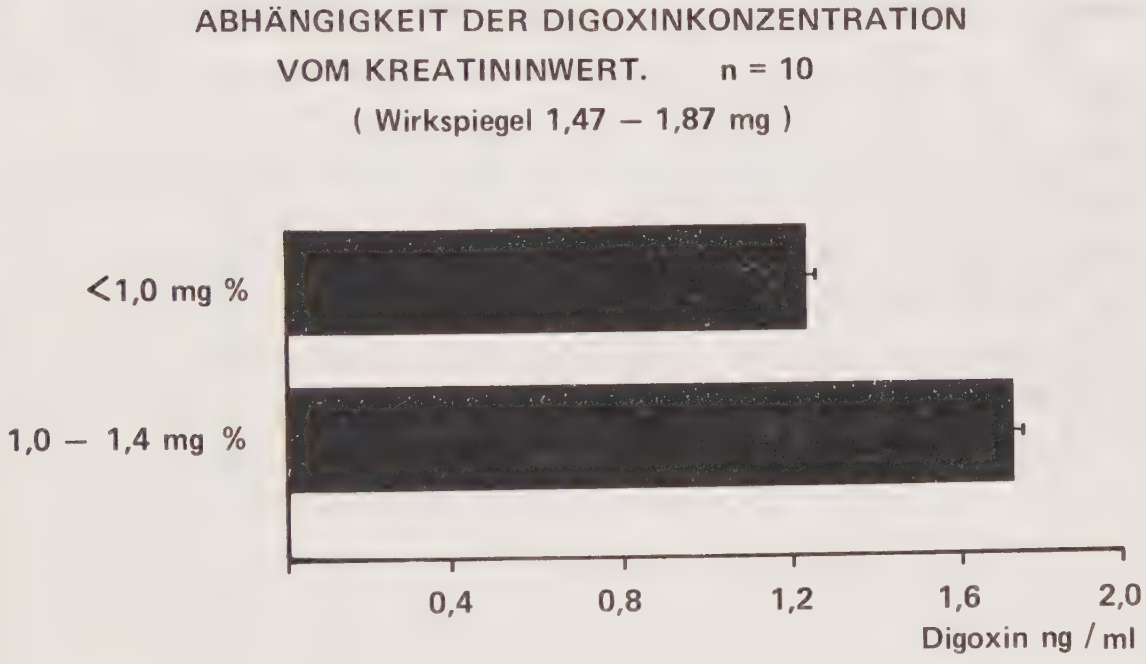


Abbildung: 17

bezeichnetem Serumkreatinin von 1,0 bis 1,4 mg/100 ml ergeben sich bei Patienten mit gleichem Wirkspiegel gegenüber einer Kontrollgruppe mit einem Serumkreatinin unter 1,0 mg/100 ml signifikant höhere Plasmadigoxinkonzentrationen (Abb.: 17). Das Körpergewicht der hier untersuchten Patienten liegt im Mittel bei 65,4 kg. Obwohl das diesbezügliche Patientenmaterial gering ist, läßt sich feststellen, daß bei einer errechneten oralen Dosis von 1 ug ß-Acetyldigoxin pro kg Körpergewicht täglich (bis rund 4 mg/100 ml Serumkreatinin) die Digoxinplasmakonzentration proportional zum Serumkreatinin ansteigt. Innerhalb

Wirkspiegel mg	Kreat./S mg %	Alter J	KG kg	Intoxikation			Digoxinkonz. ng / ml
				av–Block	gastro–intestinal	Visuell	
1,87 n = 3	1,1	70,3	54,5	2	1	–	2,61
1,87–2,0 n = 4	1,3	71,5	67,6	2	–	–	3,40
2,0 –3,0 n = 6	1,9	67,2	73,1	4	2	2	3,35
> 3,0 n = 3	2,4	62,7	85,0	3	2	2	4,07

Tabelle 7: Abhängigkeit der Digoxinkonzentration bei zunehmender Einschränkung der glomerulären Funktion.

des gemessenen Nierenfunktionsbereiches beträgt die Digoxinerhöhung rund 0,37 ng/ml für jede Erhöhung der Serumkreatininkonzentration um 1 mg/100 ml. Es ist anzunehmen, daß diese Korrelationskurve einen exponentiellen Verlauf aufweist, so daß der Quotient Δ Digoxin : Δ Kreatinin dann zunimmt.

Mit zunehmender Einschränkung der glomerulären Funktion nehmen gastrointestinale, ophthalmologische und elektrokardiographische Intoxikationszeichen mit steigender Digoxinkonzentration zu (Tabelle 7).

3. Beziehung der Intoxikationssymptome zur Digoxinserumkonzentration:

Aus Abbildung 18 ist zu entnehmen, daß trotz großer Schwankungen der Digoxinkonzentrationen bei nahezu identischer PQ-Zeit, die av-Überleitungszeit bis zu einer Digoxinkonzentration über 3,0 ng/ml kontinuierlich zunimmt. Im Einzelfall kann eine verlängerte PQ-Zeit auf 0,21" bereits bei einer Digoxinkonzentration von 1,49 ng/ml nachgewiesen werden, eindeutig pathologische Ergebnisse werden aber erst oberhalb von 2,0 ng/ml gefunden.

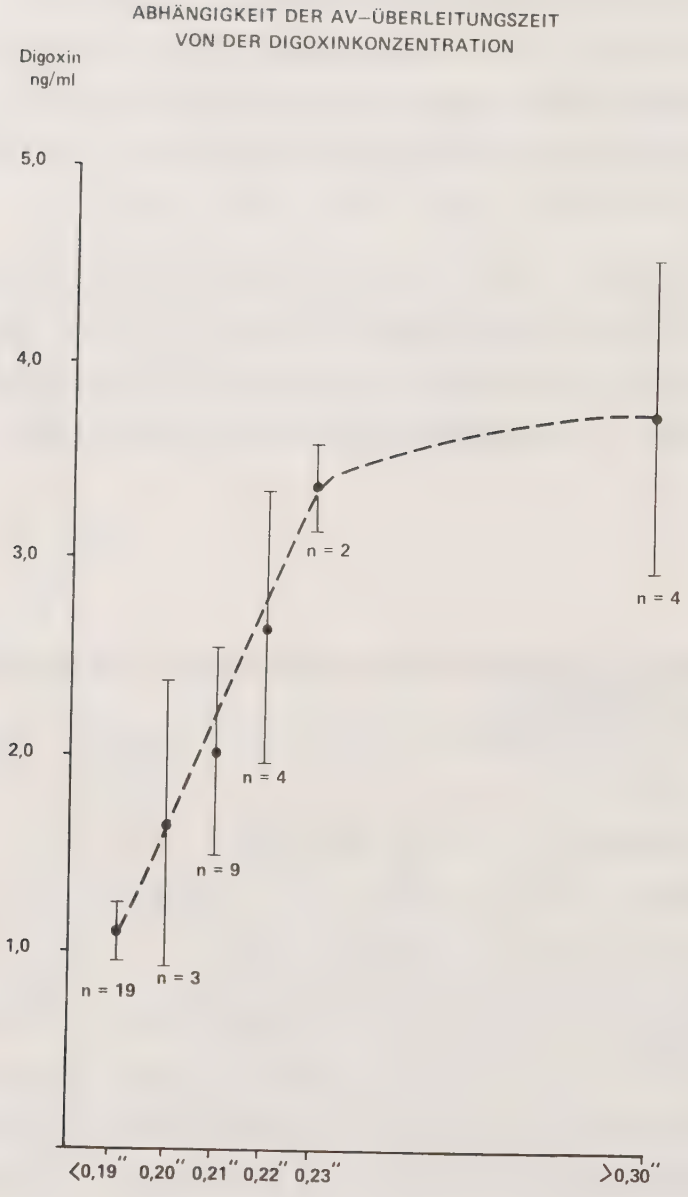


Abbildung: 18

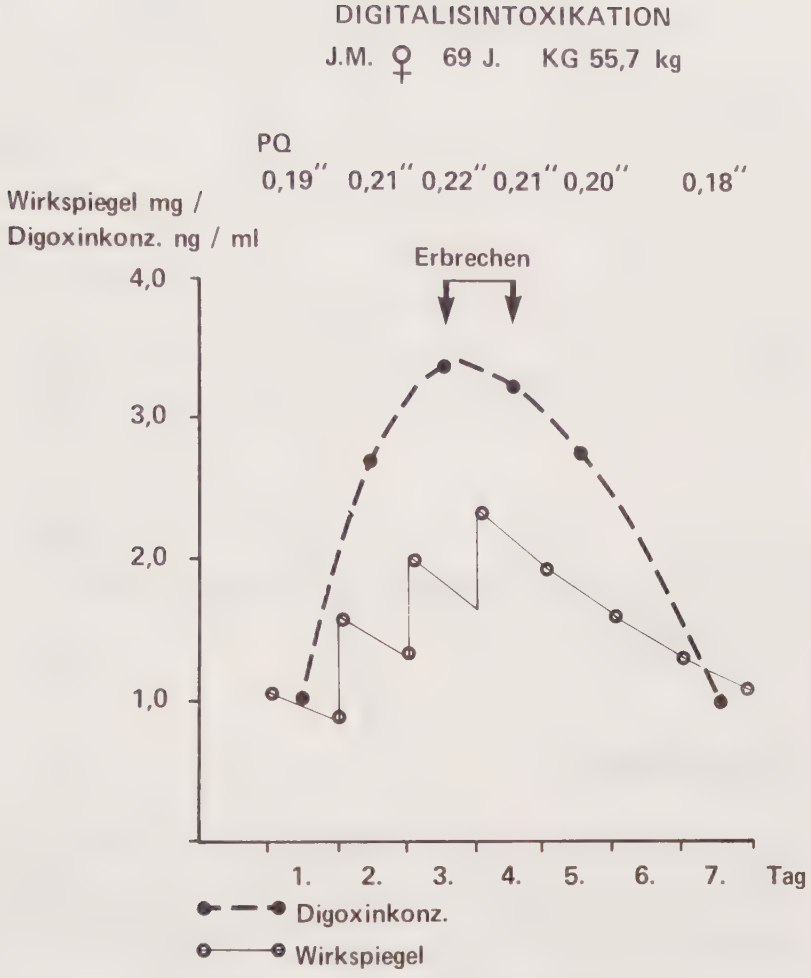


Abbildung: 19

Die Erhöhung der Digoxinkonzentration über 3,0 ng/ml führt bei der 69-jährigen Patientin der Abbildung 19 neben Erbrechen lediglich zu einer Verlängerung der PQ-Zeit auf 0,22".

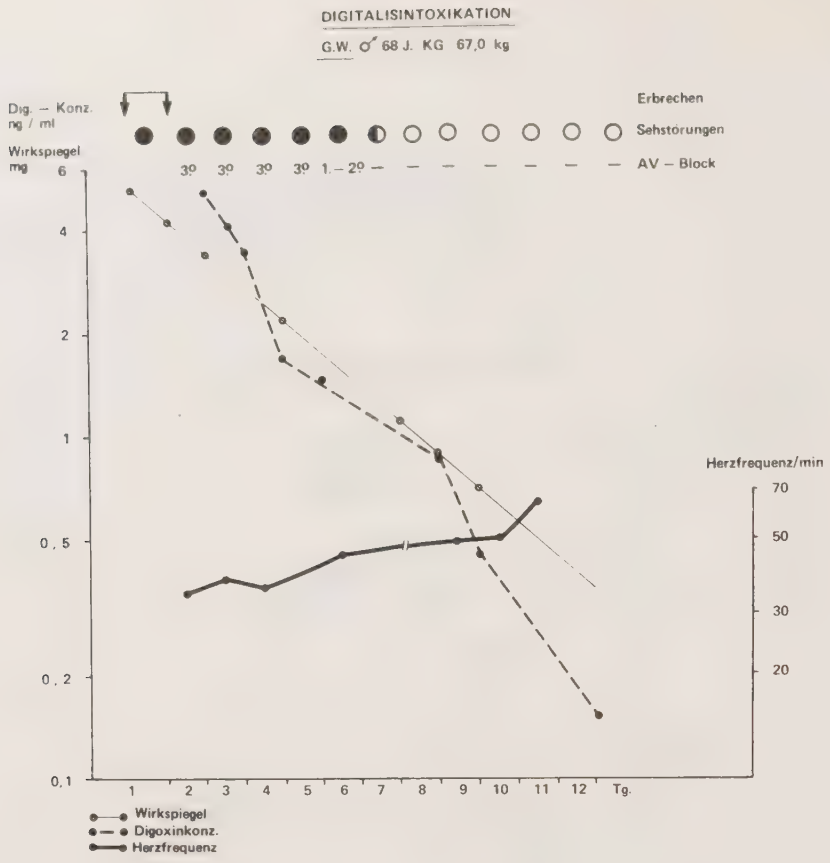


Abbildung: 2o

Bei dem 68-jährigen Patienten der Abbildung 20 ist ein totaler av-Block aufgetreten, der trotz Absetzen der Medikation bis zu einer im Normbereich liegenden Digoxinkonzentration von 1,65 ng/ml persistiert. Die gastrointestinalen Symptome verschwinden sehr schnell, die Sehstörungen überdauern die av-Überleitungsstörungen um 24 Stunden. Die Herzfrequenz normalisiert sich dagegen langsam, wie die Abbildung 21 verdeutlicht.

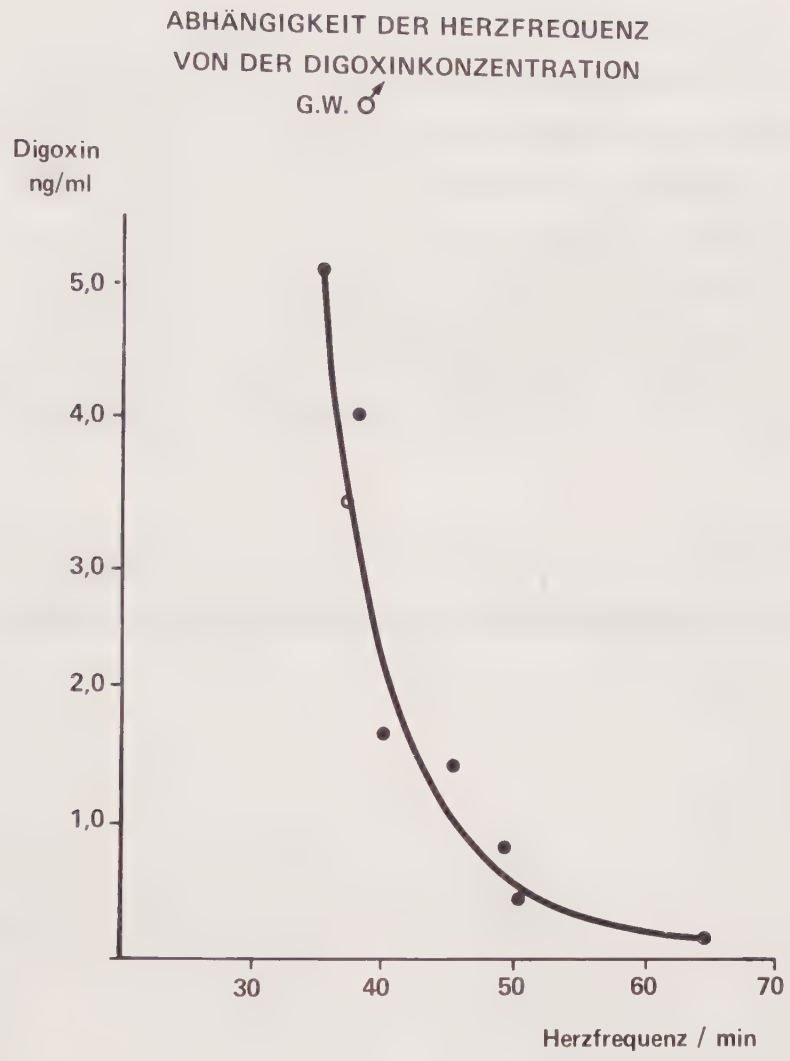


Abbildung: 21

4. Digoxinserumkonzentration bei Schilddrüsenfunktionsstörung:

Die Digoxinserumkonzentration geht bei der Hyperthyreose signifikant zurück. Wie die Abbildung 22 zeigt, werden sehr hohe Erhaltungsdosen benötigt - und zwar 0,8 mg ß-Acetyldigoxin täglich - um die Digitalisplasmakonzentration auf ca. 1,2 ng/ml zu bringen. Dennoch liegen diese Konzentrationen weit unterhalb der bei euthyreoten, mit nur 0,4 mg ß-Acetyldigoxin täglich behandelten Patienten.

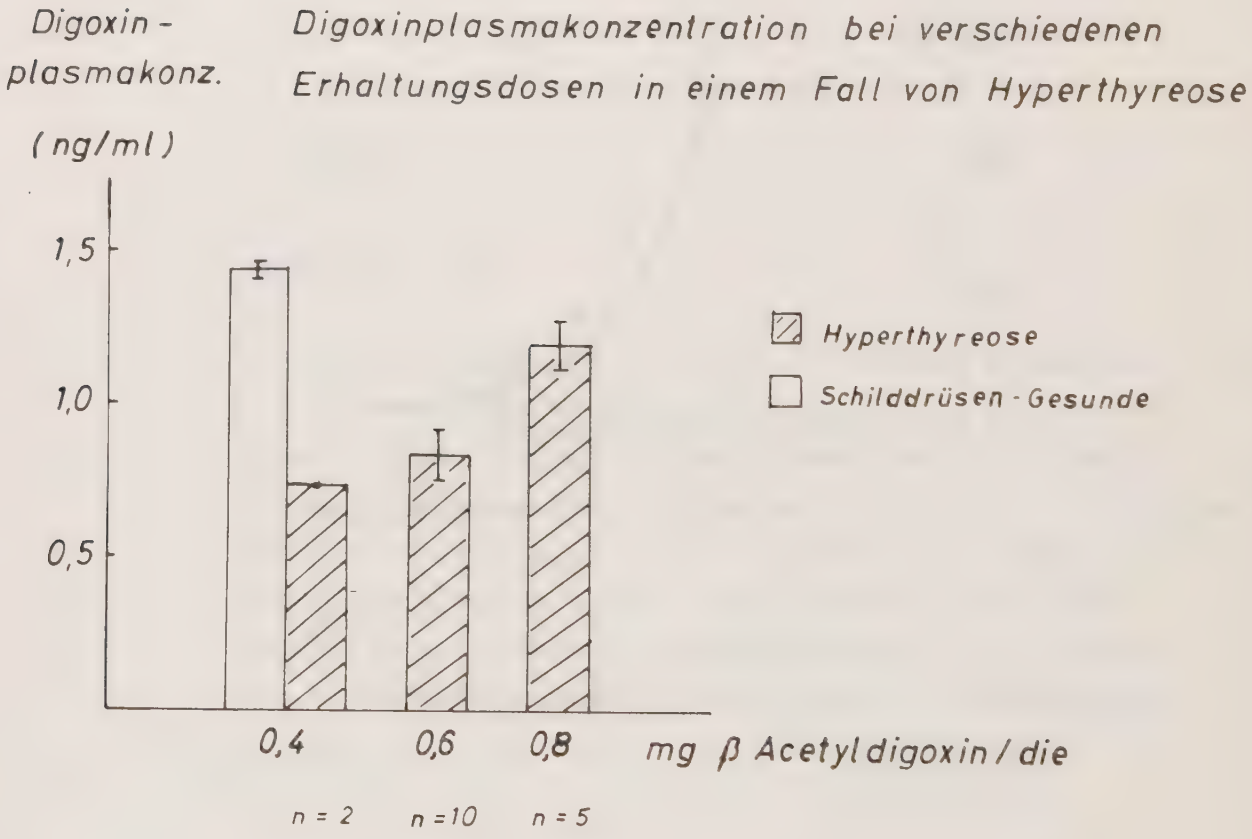


Abbildung: 22

Bei der Hypothyreose dagegen findet der obige Effekt statt wenn Schilddrüsenhormon als Substitutionsbehandlung verabfolgt wird (Abb.: 23). Wie die zuletzt erwähnte Abbildung zeigt, tritt außerdem bei täglich konstanter Digitalisdosis die Senkung der Plasmadigoxinkonzentration bereits auf, wenn geringgradige, kaum stoffwechselwirksame Trijodthyronin-Mengen gegeben werden. Allerdings erscheint der Schilddrüsenhormoneffekt von der Dosis abhängig zu sein, so daß bei hierdurch bedingtem Abklingen der Hypercholesterinämie gleichzeitig die Digoxinplasmakonzentration abnimmt (Abb.: 24).

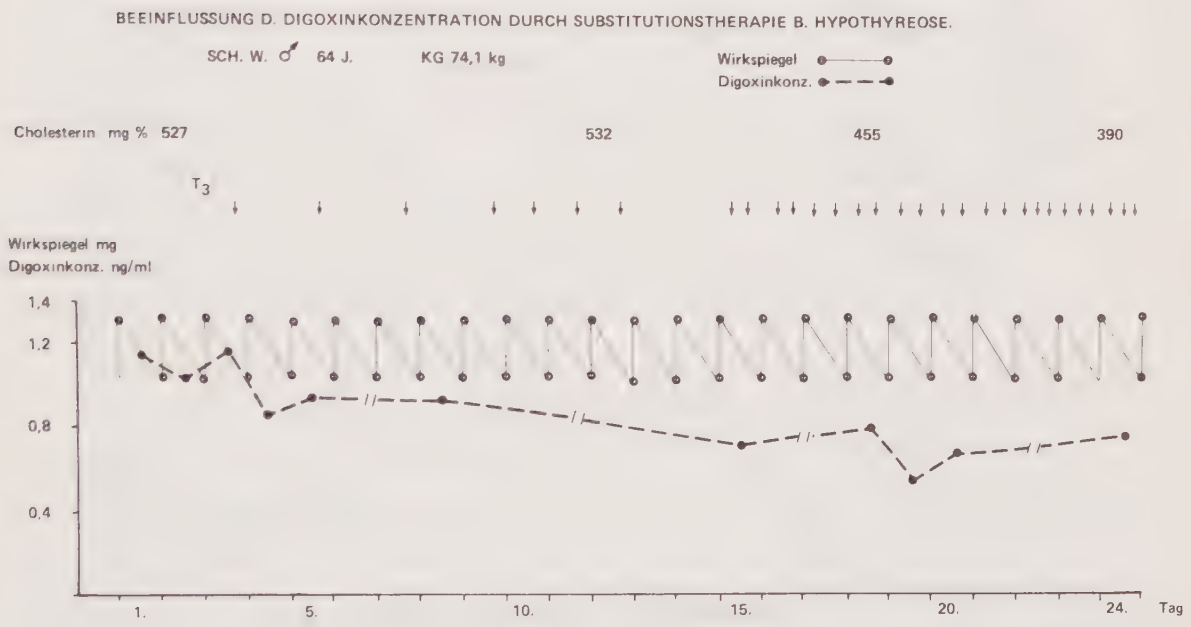
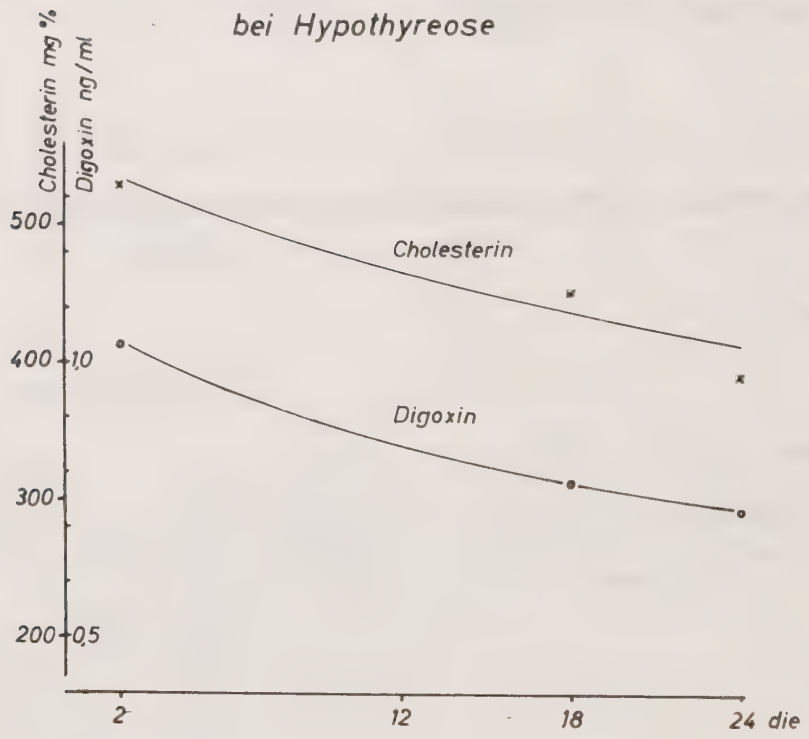


Abbildung: 23

Die Digoxinanfangskonzentrationen der noch nicht behandelten Hypothyreosen liegen mit 1.11 ± 0,07 ng/ml nicht signifikant über denen einer Kontrollgruppe mit gleicher Erhaltungsdosis.

Verlauf des Serumcholesterins und Digoxins(x) während der Schilddrüsenhormonsubstitution bei Hypothyreose



(x) Erhaltungstherapie 0,3mg β-Acetyldigoxin / die

Abbildung: 24

IV. Diskussion:

Nicht die Patientenzahl (n = 46), sondern die der Bestimmungen (ca. 580 Digoxinkonzentrationen in Dreifachbestimmung; einschließlich Überprüfung der Methode über 4 000 Einzelbefunde) charakterisieren diese Arbeit. Es wurde darauf geachtet, daß nur diejenigen Patienten, die zweifelsfrei zu einer der drei erwähnten Gruppen gehörte, für unsere Untersuchungen herangezogen wurden. Hierfür war es außerdem nötig, daß bei der kontrollierten und standardisierten Digitaliseinnahme keine anderen Medikamente nebenbei verabfolgt werden mußten. Unter diesen Bedingungen war die Erfassung der individuellen Schwankung der Digoxinblutkonzentrationen die erste Voraussetzung für das weitere Vorgehen. Sie war gering (< 5%) nicht allein wegen der strengen Auswahlkriterien und Untersuchungsbedingungen, sondern auch wegen der Ausschaltung von Fehlerquellen, die bei der Methodenüberprüfung zur Modifikation derselben führten (GROSSE-BROCKHOFF 1973 4,7%; ANGGARD 1972 12,6%).

Die hier angewandte Methode beruht im wesentlichen auf den von BUTLER und CHEN (1967 und 1971) erarbeiteten Grundsätzen. Nach Angaben in der Literatur wird eine prozentuale Bindung an den Digoxinantikörper von ca. 50% angestrebt, wobei zusätzlich die Inkubationszeit zugunsten der Dienstleistung möglichst kurz gehalten werden sollte. Die kürzesten Inkubationszeiten werden mit 15 Minuten bei EVERED 1970 und SMITH 1969/73 sowie ZEEGERS 1973 bei einer Inkubationstemperatur von 25 - 30° C, bzw. zusätzliche Verlängerung um 5 Minuten im Eisbad bei CERCEO 1972 angegeben. Die Bindungskapazitäten schwanken hier zwischen 37 - 45 - 50%. Nach MEADE und KLEIST 1973 steigt die BK von 17,2 auf 48,6% bei Verlängerung der Inkubationszeit von 1 Minute auf

30 Minuten und nach 120 Minuten erreicht sie 52,6%. GROSSE-BROCKHOFF et al. geben für eine der von uns angewandten entsprechenden Inkubationszeit von 60 Minuten bei Raumtemperatur eine BK von 40 - 60% an. ZEEGERS 1973 findet keine Veränderung der Ergebnisse zwischen 15 und 120 Minuten. Bei dem von uns benutztem Antikörper kann eine bei weiterer Verlängerung der Inkubationszeit unveränderte Bindung erst ab 60 Minuten bis 24 Stunden erreicht werden. Die Schwankungen der BK liegen dabei niedriger als zumeist angegeben (< 3%).

Die Abtrennung vom Antigen-Antikörperkomplex erfolgt bei Verwendung von tritiummarkiertem Digoxin nahezu ausschließlich mit Dextranaktivkohle, wobei insbesondere bei ZEEGERS 1973 und MEADE 1972/73 auf die starke Adsorptionskraft der Kohle hingewiesen wird. In zeitlicher Abhängigkeit wird bei MEADE nach 4 Minuten entsprechend unseren Ergebnissen und denen von GROSSE-BROCKHOFF 97% des ^{3}H-Digoxins an die Kohle gebunden. ZEEGERS und MEADE finden so wie wir eine Minderung der Bindungskapazität des Digoxinantikörpers direkt proportional zu der Einwirkzeit der Dextranaktivkohle mit in den ersten 30 bis 60 Minuten schnellerem Abfall; bei ZEEGERS über 120 Minuten hinaus anscheinend konstanten Ergebnissen.

Die Zentrifugationszeiten werden zumeist mit 5 - 10 Minuten bei ca. 2 000 - 3 000 Upm (GROSSE-BROCKHOFF 10 Minuten bei 5 000 Upm und 15° C) angegeben. MEADE 1972 zentrifugiert 20 Minuten bei 3 000 Upm und 4° C. Die Ergebnisse bei ZEEGERS 1973 sind bei einer Zentrifugationszeit von nur 5 Minuten bei 3 000 Upm und Raumtemperatur vergleichbar. Eine Beeinflussung der Methode durch Änderung der Zentrifugationsbedingungen besteht also wie von uns angegeben nicht.

Die unter vergleichbaren Bedingungen erreichten Standardabweichungen liegen bei uns bei 3%. Lediglich LARBIG 1973 und SMITH et al. seit 1969 erreichen mit 3 - 4% entsprechende Ergebnisse. Zumeist werden 5 - 10% angegeben (ANGGARD 1972 4,8%; STROBACH 1972 und EVERED 1970 5%; PARK 1973 mit ^{125}J 7,1%; GROSSE-BROCKHOFF 1973 3,9 - 10%).

Im methodischen Teil ist ferner gezeigt worden, daß Substanzen chemisch ähnlicher Konfiguration wie Spironolactone und Digitoxin die Digoxinkonzentrationsbestimmung stört. Diese Feststellung steht in Übereinstimmung mit den Befunden von SMITH, BUTLER et al. 1970/73, KUNO-SAKAI 1972, ZEEGERS 1973, BERTLER 1973 und STEINESS 1973. Diese erwähnte Störung der Bestimmung ist auf die kompetitive Verdrängung aus den Bindungsstellen des Antigens vom Antikörper zurückzuführen, wie die hierdurch bedingte Herabsetzung der Bindungskapazität zeigt. Naturgemäß ist dieser Effekt am deutlichsten bei der am meisten ähnlichen Substanz festzustellen, nämlich beim Digitoxin. Schon bei dem Vorgang der unspezifischen Albuminadsorption nimmt die Bindung eines der beiden Glykoside in Anwesenheit der anderen ab (KREBS 1971). SMITH und BUTLER 1970/73 finden bei dem von ihnen benutztem Antiserum eine signifikant geringere Affinität des Digitoxins als Digoxin an den Digoxinantikörper mit einer mittleren prozentualen Minderung der Bindung an den Antikörper um ca. 50%, entsprechend unseren Ergebnissen von 43,6%. Je stärker die chemische Abweichung vom Digoxinmolekül, umso geringer die methodische Beeinflussung. Bemerkenswert sind die Ergebnisse der Seite 22 wo mit Hilfe des Digoxinantikörpers nicht nur Digitoxin, sondern auch eine Reihe von Digoxinderivaten erfaßt werden. Gegenüber dem erwarteten Wert ist beim Digitoxin die stärkste beim ß-Methyldigoxin die geringste Abweichung zu verzeichnen. Auch für die Digitoxosidverbindungen erscheint

der Digoxinantikörper spezifisch zu sein. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von SMITH und BUTLER überein. Auch GROSSE-BROCKHOFF et al. finden mit demselben auch von uns verwandten Antikörper keine Beeinflussung der Ausbeute durch ß-Methyldigoxin und den Geninen. Individuelle Schwankungen der Digoxinkonzentrationen durch Veränderung der Blutzusammensetzung sind, wenn überhaupt nur geringgradig zu erwarten. Die Serumcholesterinkonzentration scheint die Bestimmung nicht zu beeinflussen, dagegen sind zyklusabhängige Schwankungen, wenn auch geringgradig, nicht auszuschließen. Diese Befunde stimmen ebenfalls mit denen von SMITH und BUTLER überein. GROSSE-BROCKHOFF et al. können eine Beeinflussung weder mit Cholesterin und Cortisol, noch mit Progesteron oder Ostrogenen nachweisen, entsprechend den Befunden bei SMITH et al. (1969/70). Letztere Autoren beschreiben jedoch eine Verdrängung des Digoxins vom Antikörper mit Progesteron und Testosteron, wenn deren Konzentration um das 1 000-fache über der des Digoxins liegt. ZEEGERS findet dagegen eine Interferenz seines Antikörpers auch mit Prednison und Prednisolon. PARK zeigt 1973 eine Beeinflussung bei Benutzung von ^{125}J-Digoxin in abnehmender Stärke auch unter Progesteron, Cortison, Testosteron, Cortisol und Cholesterin.

Der therapeutische Bereich der Digoxinplasmakonzentrationen liegt bei 1,49 $\pm$ 0,08 ng/ml und entspricht dem Wirkspiegel von 1,49 bis 1,87 mg. In diesem Bereich ist die Digitaliswirkung und nicht die Nebenwirkung zu beobachten. Allerdings sind bei den erwähnten Blutkonzentrationen Intoxikationszeichen dennoch festzustellen, wenn vorher eine Uberdosierung stattgefunden hat, so daß das Intoxikationsbild sich noch in Rückbildung befindet. Die in der

Literatur angegebenen therapeutischen Konzentrationsbereiche liegen bei Beachtung vergleichbarer Dosierungen, Zeitpunkte der Blutentnahme und patientengebundener sowie methodischer Bedingungen zwischen 1,26 (GREEFF 1973/74) und 1,71 ng/ml (GROSSE-BROCKHOFF 1973) - am besten stimmen unsere Ergebnisse mit denen von LARBIG 1972 (1,5 ng/ml) überein. Die von uns angegebene Schwankungsbreite zwischen 1,23 und 1,94 ng/ml stimmt ebenfalls mit den Angaben der Literatur überein. CHAMBERLAIN 1970 schließt jedoch noch niedrige Konzentrationen von nur 0,5 ng/ml in den von ihm ermittelten therapeutischen Bereich ein, wobei es sich jedoch um Patienten mit Vorhofflimmern, also möglicherweise noch fraglicher Herzdekompensation handelt. Übereinstimmung besteht hinsichtlich des toxischen Bereiches, der oberhalb einer Digoxinblutkonzentration von 2,0 ng/ml angegeben wird.

Therapeutische Digoxinplasma- bzw. -serumkonzentrationen werden bei einer Dauermedikation von 0,4 mg ß-Acetyldigoxin/die in der Regel aufrechterhalten. Sie entsprechen in etwa den Ergebnissen von REDFORS et al. 1973 mit Digoxin, obwohl die hier registrierte Schwankung höher als bei uns liegt. Zu empfehlen ist bei der Dosierung das Körpergewicht zu berücksichtigen, so daß, um konstante therapeutische Blutkonzentrationen zu erreichen, 6 µg ß-Acetyldigoxin pro kg Körpergewicht per os benötigt werden. Diesbezügliche Angaben werden bei SMITH und BUTLER sowie LARBIG gemacht, wobei die Ergebnisse von LARBIG wiederum gut mit den unseren übereinstimmen (6 µg/kg KG). Zu berücksichtigen ist aber hierbei nicht nur die Verabreichung unterschiedlicher Substanzen, sondern auch die unterschiedlichen Tablettenpräparationen.

Das Erbrechen als Symptom der Digitalisintoxikation bedarf der genauen Objektivierung. Sehr oft wird es übersehen (häufig ist die Übelkeit das dominierende Symptom), fehlgedeutet oder auch unterbewertet. BINNION 1973 findet bei 53 Herzpatienten mit dieser Symptomenkonstellation keine Abhängigkeit von der Höhe der Digoxinkonzentration. Sie schwankt zwischen 0,6 und 5,4 ng/ml (in nur 8 Fällen von insgesamt 56 Bestimmungen beträgt die Serumkonzentration mehr als 3,0 ng/ml). Wir haben dagegen festgestellt, daß wenn das digitalisbedingte Erbrechen auftritt, es in Beziehung zur Konzentration steht, und zwar bei Überschreiten von 3,0 ng/ml. Entsprechend bildet es sich bei absinkender Digoxinkonzentration zurück. Dieser Wert stimmt ferner mit dem Wirkspiegel von rund 2,0 mg überein, welcher wie bekannt vom Kliniker als "emetische Grenze" angesehen wird. Dagegen ist zu erwähnen, daß bei einer Reihe von Fällen mit sehr hohen Digoxinplasmakonzentrationen weder Erbrechen noch andere gastrointestinale Erscheinungen beobachtet werden, obwohl andere Intoxikationszeichen festzustellen sind. Zusammenfassend scheint die Schlußfolgerung richtig, daß Nausea oder Erbrechen in Gegensatz zu früheren Auffassungen keine zuverlässigen Zeichen der Digitalisüberdosierung sind, da sie oft fehlen können. Gastrointestinale Symptome ohne gleichzeitige bemerkenswerte Erhöhung der Digoxinblutkonzentration sind unseres Erachtens als nicht digitalisbedingt anzusehen.

Auch bei Patienten mit einem av-Block findet BINNION 1973 keine strenge Abhängigkeit von der Digoxinkonzentration. Wir finden dagegen eine trotz größerer Schwankungen signifikante Korrelation, so daß ab einer Digoxinplasmakonzentration von 2,0 ng/ml mit einer zunehmenden av-Überleitungszeit gerechnet werden muß. Die Reversibilität dieses Effektes tritt bezogen auf die Eliminationsrate des Digoxins verzögert auf, so daß bei kaum

nennenswerten Digoxinblutkonzentrationen der av-Block noch festgestellt werden kann. Dieses ist unseres Erachtens der Grund für die widersprüchlichen Angaben in der Literatur. Frühere Untersuchungen von RUIZ-TORRES (1970 und nicht veröffentlicht) haben ergeben, daß der Rückbildungsvorgang eines durch Digoxin bedingten av-Blockes eine etwa dreifach längere HWZ, als die des Digoxins hat. In Einklang mit den oben erwähnten, stehen die Ergebnisse über die Wirkung der Digoxinblutkonzentration auf die Herzfrequenz. Die aufgetretene Bradykardie bildet sich entsprechend verzögert nach Absetzen der Digitalismedikation zurück. Diese Feststellung erklärt ferner die große Streuung der Ergebnisse von CHAMBERLAIN 1973, der im "cardial toxischen Bereich" Digoxinserumkonzentrationen von 0,6 bis über 5 ng/ml findet.

Nur in einem Fall haben wir Gelegenheit gehabt, die optischen Erscheinungen des Digoxins in Abhängigkeit von der Blutkonzentration zu untersuchen. Sie sind noch vorhanden, als die Digoxinkonzentration bereits auf therapeutische Werte (ca. 1,4 ng/ml) abgesunken ist. Die Reversibilität ist ebenfalls in Beziehung zu der Eliminationskinetik des Digoxins verzögert, allerdings schneller als im Falle der Herzaktion. Angaben aus der früheren Literatur (bei SCHLIACK et al. 1967) lassen eine streng von der Höhe der Digoxinkonzentration im Blut abhängige Beziehung dieses Intoxikationszeichen annehmen.

In der Literatur wird immer wieder, zur Vermeidung einer Intoxikation, auf die entsprechend der verzögerten Elimination der Digoxinpräparate bei eingeschränkter glomerulärer Funktion erforderliche Reduzierung der täglichen Erhaltungsdosen hingewiesen. Angestrebt werden leicht erfaßbare

individuelle Richtlinien der Dosierung. Auf die zusätzlichen Schwankungen in Abhängigkeit vom Körpergewicht der Patienten ist bereits hingewiesen worden. OHNHAUS findet 1974 eine lineare Beziehung zwischen Digoxineliminationskonstante und Kreatininclearance, FAL/CH 1973 bei Gegenüberstellung von Plasmakonzentration und Kreatininclearance einen exponentiellen Kurvenverlauf, etwa entsprechend den Ergebnissen von LARBIG und GROSSE-BROCKHOFF. Letzterer erzielt eindeutigere Beziehungen zur Inulin- und PAH-clearance. WAGNER et al. finden 1973 eine lineare Korrelation zwischen der Digoxinplasmakonzentration (ng/ml) und dem Quotienten µg Dosis/kg Körpergewicht / Kreatininclearance (ml/min/1,73 m^2) einerseits und dem Produkt µg Dosis/kg Körpergewicht mal Serumkreatinin (mg/100 ml). Letztere Beziehung ist für die praktische Anwendung vorzuziehen, wegen der insbesondere bei Herzinsuffizienz infolge Wasserretention und bei älteren Patienten infolge Sammelfehler häufig verfälschten Kreatininclearance.

Für die individuelle Dosierung gibt WAGNER den Annäherungswert für die letzte Beziehung von 1 : 5 an. Dieses würde bedeuten, daß bei einem normalen Serumkreatinin von 1,0 mg% zur Erreichung einer Plasmakonzentration von 1,4 ng/ml 7 µg/kg Körpergewicht erforderlich wären - eine geringgradig höhere Dosierung als bei uns. Entsprechend ergäbe sich eine Digoxinkonzentrationssteigerung um jeweils 0,2 ng/ml für jede Erhöhung der Serumkreatininkonzentration um 1 mg/100 ml. Diese Werte liegen bei sonst vergleichbaren Befunden geringgradig unter der von uns ermittelten Rate von 0,37 ng/ml, wobei auf die auch vom Autor erwähnte erhebliche Abweichung innerhalb der Einzelgruppen hingewiesen werden muß.

FRYE und BRAUNWALD 1961 stellen unter vielen fest, daß zunehmend höhere Herzglykosiddosen zur Beeinflussung der Herzfrequenz bei ansteigender Trijodthyronintherapie erforderlich sind. Bei Untersuchungen von DOHERTY und Mitarbeitern 1966 bis 1973 mittels tritiummarkiertem Digoxin liegen die Digoxinkonzentrationen wesentlich unter denen bei Euthyreose und Hypothyreose. Als mögliche Erklärung kommt nach Meinung dieser Autoren eine Veränderung der Kinetik bei Schilddrüsenkranken in Frage (gesteigerte Elimination bei Hyperthyreose?). Die Herabsetzung der Digoxinplasmakonzentration gegenüber Schilddrüsengesunden bei Hyperthyreose um ca. 17% geht mit einer Zunahme der Exkretion um 11% einher; bei der Hypothyreose eine Erhöhung der Blutkonzentration um ca. 26% mit einer verminderten Elimination um 17%. Eine zusätzliche Beeinflussung von Resorption und Verteilung ist denkbar und zum Teil durch tierexperimentelle Untersuchungen (DOHERTY et al. 1966) erhärtet.

Die von uns ermittelte, bei jeweils vergleichbarer Dosierung, von obigen Befunden abweichende Änderung der Digoxinplasmakonzentrationen gegenüber Schilddrüsengesunden (Hyperthyreose: - 50%; Hypothyreose: + 9%) erscheint abhängig von der Ausprägung der hormonellen Funktionsstörung. Zur Erreichung identischer Digoxinplasmakonzentrationen von 1,2 ng/ml ist bei uns im Falle der Hyperthyreose eine dreifach höhere Dosierung (12 ug/kg Körpergewicht) als bei der Hypothyreose erforderlich (4 ug/kg Körpergewicht). Zusammenfassend ist die klinisch beobachtete Digitalisresistenz bei Hyperthyreose mit der festgestellten herabgesetzten Digoxinplasmakonzentration in Verbindung zu sehen.

V. Zusammenfassung:

Auf der Grundlage der üblichen radioimmunologischen Methoden wird ein Verfahren zur Bestimmung von Digoxinblutkonzentrationen geprüft und modifiziert. Diese Modifikationen bestehen in einer Erhöhung der Antikörperkonzentration, Verlängerung der Inkubationszeit und Verkürzung der Einwirkzeit des Trennungsmittels (Dextranaktivkohle) sowie Verkürzung der Aktivitätsmeßzeit.

Als Faktoren, die die Methode beeinflussen, sind die Anwesenheit von Digitoxin und Spironolactone ermittelt worden. Dagegen erscheint die Bestimmung durch digoxinstrukturähnliche Substanzen wie Cholesterin, Prednisolon und zyklusabhängige Veränderungen der hormonellen Blutzusammensetzung nicht beeinflußt zu werden.

An einem Material von insgesamt 46 Patienten mit einer kompensierten Herzinsuffizienz unter einer Erhaltungstherapie, Herzkranken mit einer Digitalisüberdosierung und solche mit zusätzlicher Störung der Schilddrüsenfunktion werden regelmäßig die Digoxinkonzentrationen im Plasma jeweils 24 Stunden nach der letzten Tabletteneinnahme bestimmt.(insgesamt 380 Digoxinkonzentrationen in 3-fach-Bestimmung; einschließlich Überprüfung der Methode über 4 000 Einzelwerte). Daraus geht hervor, daß die Digoxinkonzentrationen, welche die Aufrechterhaltung der Kompensation bewirken, bei 1,49 $\pm$ 0,08 ng/ml liegen mit einer Schwankungsbreite von 1,23 bis 1,94 ng/ml. Sie entspricht einer Dosierung von 6 µg ß-Acetyldigoxin/kg Körpergewicht. Mit ansteigender Digoxinkonzentration treten Intoxikationserscheinungen auf, deren Ausprägung proportional zu der Erhöhung der Blutkonzentrationen ist.

Sie bilden sich allerdings im allgemeinen langsamer zurück, als die Normalisierung der Blutspiegel erfolgt.

Bei der Hyperthyreose bzw. unter Substitution der Hypothyreose tritt eine Senkung der Digoxinkonzentrationen im Blut auf, welche auf eine verminderte Resorption zurückgeführt werden kann.

1. Abshagen, U.; K. v. Bergmann; N. Rietbrock: Evaluation of the enterohepatic circulation after ^{3}H-Digoxin administration in the rat. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 275;1; (1972)

2. Abshagen, U.; H. Kewitz; N. Rietbrock: Distribution of Digoxin, Digitoxin and Quabain between plasma and erythrocytes in various species. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 27o; 1o5 (1971)

3. Ackermann, G.L.; J.E. Doherty; W.J. Flanigan: Peritoneal dialysis and hemodialysis of tritiated digoxin. Ann. Intern. Med. 67; 718 (1967)

4. Anggard, E.E.; L.F. Chew; S.M. Kalman: A source of error in digoxin radioimmunoassay New. Engl. J. Med. 287; 935 (1972)

5. Beermann, B.: The gastrointestinal uptake of Methyldigoxin - 12 α - ^{3}H in man. Europ. J. clin. Pharmacol. 5; 28 (1972)

6. ▬ : Pharmaco-kinetics of Lanatoside C and methyldigoxin. Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 4o4

7. Beller, G.A.; Th.W. Smith; W.H. Abelmann, E. Haber; W.B. Hood jr.: Digitalis intoxication. A prospective clinical study with serum level correlations. New. Engl. J. Med. 284; 989 (1971)

8. Belz, G.G.; G. Rudofsky; G. Belz: Glykosid-Plasmaspiegel und Elektrokardiogramm während mittelschneller und langsamer Sättigung mit ß-Methyldigoxin bei gesunden Probanden. Dtsch. med. Wschr. 99; 329 (1974)

9. Belz, G.G.; G. Rudofsky; K. Lossnitzer; G. Wolf; M. Stauch: Plasmaspiegel und Elektrokardiogramm nach intravenöser Applikation von Proscillaridin und Digoxin. Zeitschrift f. Kardiol. 63; 2o1 (1974)

1o. Benthe, H.F.: Die Elimination von Digoxin und seinen Acetyl-Derivaten. Aktuelle Digitalisprobleme, 2. Berl. Arbeitstagung Dez. 197o; S. 4o

11. — : Zusammenhang zwischen Lipoidlöslichkeit und Resorption verschiedener Digitalisglykoside. Probleme der klin. Prüfung herzwirksamer Glykoside 1973; S. 29

12. Bergmann, K.v.; U. Abshagen; N. Rietbrock: Quantitative analysis of digoxin, 4''' - acetyldigoxin and 4''' - methyldigoxin and their metabolites in bile and urine of rats. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 273; 154 (1972)

13. Bertler, A; A. Gustafson; P. Ohlin; M. Monti; A. Redfors: Digoxin intoxication and plasma glycoside levels. Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 3oo

14. — ; A. Redfors: The ^{86}Rb - method for digoxin assay. Comparison with radioimmunassay. Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 64

15. Bine, R.; M. Friedman: Observations concerning the effects of blood upon the action of a digitalis Glycoside.
Amer. J. med. Sci. 216; 534 (1948)

16. — ; — ; Quantitative Detection of minute concentrations of Digitoxin.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 69; 487 (1948)

17. — ; — ; S.O. Byers; Ch. Blaud: The deposition of Digitoxin in the tissues of the rat after parenteral injection.
Circulation 4; 1o5 (1951)

18. Binnion, P.F.: Plasma digoxin levels and electrocardiographic changes in man.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 366

19. — ; L.M. Morgan; H.M. Stevenson; E. Fletcher: Plasma and myocardial digoxin concentrations in patients on oral therapy
Brit. Heart J. 31; 636 (1969)

2o. Bode, H.; K. Greeff: Über die Wirkung des Strophantins auf die renale Kalium- und Natriumausscheidung bei Ratten.
Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 227; 436 (1956)

21. Bolte, H.D.; R. Buckesfeld; P.K. Laukisch; D. Larbig: Speichelelektrolyte und Glykosidintoxikation.
Verh. Dt. Ges. Innere Med. 1o47 (1973)

22. Brocker, G.; R.W. Jelliffe: Serum cardiac glycoside assay based upon displacement of ^{3}H - Quabain from Na-K.-ATPase.
Circulation 45; 2o (1972)

23. Brown, B.T.: The distribution of digitalis glycosides and their metabolites with-in the body of the rat.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 118; 39 (1956)

24. Burnett, G.H.; R.L. Conklin: The enzymatic assay of plasma digitoxin levels.
J. Lab. Clin. Med. 71; 1o4o (1968)

25. Busse, H.; H. Göing; L. Lendle: Einfluß des erhöhten Vagustonus auf die Strophantintoxizität am Herzen.
Zeitschrift für Kreislaufforschung 44; 6o4 (1955)

26. Butler, V.P. jr.: Digoxin: immunologic approaches to measurement and reversal of toxicity.
New. Engl. J. Med. 283; 115o (197o)

27. ▬ : Digoxin Radioimmunassay
Lancet 1; 186 (1971)

28. ▬ ; J.P. Chen: Digoxin-specific antibodies
Proc. Nat. Acad. Sci USA 57; 71 (1967)

29. Cerceo, E.; C.A. Elloso: Factors affecting the Radio-immunoassay of Digoxin.
Clin. Chem. Vol. 18, No 6; 539 (1972)

3o. Chamberlain, D.A.: The ratio between myocardial and plasma levels of digoxin.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 262

31. Chamberlain, D.A.: Digoxin levels in patients with atrial fibrillation.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 361

32. — ; R.J. White; M.R. Howard; Th.W. Smith: Plasma Digoxin concentrations in patients with atrial fibrillation.
Brit. Med. J. 3; 429 (197o)

33. — ; — ; — ; — :
Determination of plasma digoxin levels by radioimmunoassay
Brit. Heart J. 32; 558 (197o)

34. Cohn, K.E.; R.E. Kleiger; D.C. Harrison: Influence of potassium depletion on myocardial concentration of tritiated digoxin.
Circ. Res. 2o; 473 (1967)

35. Deane, H.W.; L.I. Gardner: Quabain and the adrenal cortex.
Endocrinology 48; 237 (1951)

36. Doherty, J.E.: The absorption, enterohepatic recycling and excretion of tritiated digoxin. Pharmakokinetics and clinical implications.
Aktuelle Digitalisprobleme 2. Berl. Arbeitstagung Dez. 197o S. 21

37. — : Digitalis serum levels: Clinical use.
Ann. Intern. Med. 74; 787 (1971)

38. — : The influence of renal function on digoxin metabolism.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 168

39. Doherty, J.E.: Digoxin: present knowledge of pharmacokinetics and pharmacodynamics.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II 73 Oslo
S. 419

4o. — ; W.J. Flanigan; M.L. Murphy; R.T. Bulloch; G.L. Dalrymple; O.W. Beard: Tritiated Digoxin. XIV. Enterohepatic circulation, absorption and excretion studies in human volunteers.
Circulation 42; 867 (197o)

41. — ; — ; W.H. Perkins; G.L. Ackermann: Studies with tritiated digoxin in anephric human subjects.
Circulation 35; 298 (1967)

42. — ; — ; R.M. Patterson; G.V. Dalrymple: The excretion of tritiated digoxin in normal human volunteers before and after unilateral Nephrectomy.
Circulation 4o; 555; (1969)

43. — ; W.H. Hall; J. Sherwood; D. Girkin; J. Gammill: Tritiated Digoxin: XV. Serum protein binding in human subjects.
Amer. J. Card. 28; 326 (1971)

44. — ; — ; — ; — ; — : Serum protein binding of digoxin in human subjects.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo
S. 48

45. — ; J.J. Kane: Clinical Pharmacology and therapeutic use of Digitalis Glycosides.
Drugs 6; 182 (1973)

46. Doherty, J.E.; W.H. Perkins: Studies with tritiated digoxin in human subjects after intravenous administration.
Amer. H. J. 63; 528 (1962)

47. — ; — : Studies following intramuscular tritiated digoxin in human studies.
Amer. J. Card. 15; 17o (1965)

48. — ; — ; W.J. Flanigan: The distribution and concentration of tritiated digoxin in human tissues.
Ann. Intern. Med. 66; 116 (1967)

49. — ; — ; J. Gammill; J. Sherwood; C. Dodd; C.C. Young: The influence of thyroid function on digoxin metabolism.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 348

5o — ; — ; G.K. Mitchell: Tritiated digoxin studies in human subjects.
Arch. intern. Med. 1o8; 531 (1961)

51. — ; — ; M.C. Wilson: Studies with tritiated digoxin in renal failure.
Amer. J. Med. 37; 536 (1964)

52. Dwenger, A.: Probleme bei der Analyse von Harn- und Organproben beim Nachweis neuer Digoxinmetabolite.
Aktuelle Digitalisprobleme 2. Berl. Arbeitstagung Dez. 197o; S. 16

53. Dwenger, A.; G. Haberland: Metabolism of ^{3}H-Digoxin and some acetyl-Digoxins: time-dependent formation of hydrophilic metabolites after oral application in man.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 27o; 1o2 (1971)

54. Enselberg, Ch.D.; B.N. Brodoff; S.I. Griboff: The action of a new oral preparation of digitalis, acetyldigoxin.
Amer. H.J. 45; 9o9 (1953)

55. Evered, D.C.; C. Champman; C.J. Hayter: Measurement ofPlasma Digoxin concentration by Radioimmunassay.
Brit. Med. J. 3; 427 (197o)

56. Ewy, G.A.; G.G. Kapadia; L. Yao; M. Lullin; F.I. Marcus: Digoxin metabolism in the elderly.
Circulation 34; 449 (1969)

57. Falch, D.; A. Teien: The influence of kidney function on the plasma level and urinary excretion of digoxin.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 183

58. Friedman, M.; S. St. George; R. Bine; S.O. Byers: The renal excretion of Digitoxin in the acute and chronic cardiac patients.
Circulation 6; 853 (1952)

59. Frye, R.L.; E. Braunwald: Studies on Digitalis. III. the influence of trijodthyronine on digitalis requirements. Circulation 23; 376 (1961)

6o. St. George, S.; M. Friedman: The intestinal excretion of Digitoxin in the rat. Circulation 6; 851 (1952)

61. Gerdes, H.; W. Staib: Eine einfache spezifische Methode zur fluorometrischen Bestimmung von freiem Cortisol nach dünnschicht-chromatographischer Isolierung aus dem Harn. Klin. Wschr. 43; 744 (1965)

62. Gilfrich, H.J.; G. Bodem; C.A. Chidsey: Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Digoxin nach chronischer und akuter Verabreichung. Kongreß f. innere Med. 79; 1o39 (1973)

63. Gillmann, H.: Grundlagen der Therapie mit Herzglycosiden. Dtsch. med. Wschr. 1; 1o (1963)

64. — : Komplikationen der Langzeittherapie mit Kardiaka. Der Landarzt 21; 9o9 (1965)

65. — ; F. Grosse-Brockhoff: Die Therapie mit Herzglykosiden. Dtsch. med. Wschr. 1; 1; (1963)

66. Gjerdrum, K.; Digitoxin determination by the erythrocyte-^{86}Rb - ATP-ase assay. Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 54

67. Goldfinger, St.E.; W.D. Heizer; Th.W. Smith: Absorption of digoxin in patients with malabsorption. Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 224

68. Gonzales, L.F.; E.C. Layne: Studies on tritium-labeled Digoxin: tissue, blood and urine determinations. J. Clin. Invest. 39; 1578 (196o)

69. Greeff, K.: Tierexperimentelle Untersuchungen über die Resorption von Strophantin bei oraler Verabfolgung. Verh. dtsch. Ges. Kreisl.-Forschung 24; 31o (1958)

7o. — : Über den Mechanismus der Wirkung von Digitalisglykosiden auf den Elektrolytstoffwechsel. Verh. dtsch. Ges. Kreisl.-Forschung 26; 127 (196o)

71. — : Zum Wirkungsmechanismus der Digitalisglykoside. Probleme der klin. Prüfung herzwirksamer Glykoside. 1973 S. 12

72. — : Bestimmung des Blutspiegels von Digoxin, Digitoxin und g-Strophantin mit Hilfe radioimmunologischer Methoden. Herz/Kreislauf 6; 145 (1974)

73. Grosse-Brockhoff, F.; K.-J. Hengels; W.P. Fritsch; B. Grabensee; T.U. Hansamen: Serumdigoxinspiegel und Nierenfunktion. Dtsch. med. Wschr. 98; 1547 (1973)

74. Haberland, G.: Darstellung und Eigenschaften von Glykosidestern.
Arzneimittel-Forschung 15; 481 (1965)

75. ▬ : Herstellung und Einsatz radioaktiver Glykoside.
Aktuelle Digitalisprobleme 2. Berl. Arbeitstagung Dez. 197o S. 1

76. Harrison, C.E. jr.; K.G. Wakim: Inhibition of binding of tritiated Digoxin to myocardium by sodium depletion in dogs.
Circulation Res. 24; 263 (1969)

77. Heeg, E.: Tierexperimentelle Grundlagen der klin. Prüfung von Digitalisglykosiden.
Probleme der klin. Prüfung herzwirksamer Glykoside 1973 S. 25

78. Heizer, W.D.; S.E. Goldfinger; Th.W. Smith: Reduced serum digoxin levels in patients with malabsorption syndromes.
Amer. J. Cardiol. 25; 1o1 (197o)

79. Herbert, V.; K.S. Lau; Ch.W. Gottlieb; S.J. Bleicher: Coated Charcoal Immunassay of Insulin.
J. Clin. Endocr. Metabol. 25; 1375 (1965)

8o. Herrmann, I.; K. Repke: Über eine neue Form der Konjugation von Geninen im tier. Stoffwechsel.
Naunyn-Schmiedeberg's Archiv 234; 333 (1964)

81. Hofer, E.: Digitalistherapie mit Beta-Acetyldigoxin.
Med. Klinik 63; 1714 (1968)

82. Hoffmann, G.: Warum zeigt das oral gegebene Strophantin (Strophoral) extracardiale Wirkungen, während eine typische Glykosidwirkung am Herzen vermißt wird? Münch. med. Wschr. 94; 1083 (1952)

83. Holtz, P.: Resorption, Spaltung und Ausscheidung von K-Strophantin bei Ratten. Klin. Wschr. 36; 258 (1958)

84. Jelliffe, R.W.: An improved method of digoxin therapy. Ann. Intern. Med. 69; 703 (1968)

85. Kasahara, K.; A. Ruiz-Torres: Einwirkung der Verdauungssäfte auf die Beständigkeit des Digoxin- und Digitoxin-Molekül. Klin. Wschr. 47; 1109 (1969)

86. Kay, C.F.: The clinical use of digitalis preparations. Circulation 12; 116 (1955)

87. Klaus, W.: Über den Einfluß verschiedener Digitoxigeninderivate auf die ^{47}Ca-Aufnahme isolierter Meerschweinchenvorhöfe. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv 274; 41 (1964)

88. Knippers, R.; K. Greeff: Zur Frage des Einflusses von Kalium-Magnesium-Aspariginat auf die Toxizität herzwirksamer Glykoside. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv 274; 37 (1964)

89. Köthe, E.; P. Kramer; F. Scheler: Vergleichende Untersuchungen über die renale und biliäre Ausscheidung von Digoxin und ß-Methyldigoxin beim Menschen. Kongress f. Innere Med. 79; 1o42 (1973)

9o. Kølendorf, K.; N.J.B. Christiansen; K. Siersboek-Nielsen; J. Mølholm Hansen: Serum Digoxin after dosage regimen based on body-weight and renal function. Lancet II; 326 (1972) Abstracts

91. Kuno-Sakai, H.; H. Sakai; S.E. Ritzmann: Interference of Digitoxin with the radioimmunassay of Digoxin. Lancet II; 326 (1972) Abstracts

92. Kramer, P.; F. Scheler: Renale Eliminationskinetik verschiedener Herzglykoside. Dtsch. med. Wschr. 97; 1485 (1972)

93. Krebs, S.: Untersuchungen über die Bindung von Digitoxin an die Serumeiweißkörper Inaug. Diss. Berlin 1971

94. Kuschinsky, K.: Über die Bindungseigenschaften von Plasmaproteinen für Herzglykoside. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. exp. Path. 262; 388 (1969)

95. Larbig, D.: Neues zur Digitalistherapie. Physikal. Med. u. Rehabilitation 7; 2o3 (1973)

96. — ; K. Kochsiek; Chr. Schrader: Klinische Aspekte der radioimmunchemischen Bestimmung der Serum-Digoxinkonzentration. Dtsch. med. Wschr. 97; 139 (1972)

97. Larbig, D.; F. Scheler; H.-J. Schmidt; G. Betzien; B. Kaufmann: Untersuchungen zur enteralen Resorption von ß-Methyldigoxin. Klin. Wschr. 49; 6o4 (1971)

98. Larese, R.J.; B.L. Mirkin: Kinetics of digoxin absorption and relation of serum levels to cardiac arrhythmias in Children Clin. Pharmacol. Therapeutics 15; 387 (1973)

99. Lowenstein, J.M.: A method for measuring plasma levels of digitalis glykosides Circulation 31; 228 (1965)

1oo. ——— ; E.M. Corrill: An improved method for measuring plasma and tissue concentrations of digitalis glycosides. J. Lab. & Clin. Med. 67; 1o48 (1966)

1o1. Lüllmann, H.; Th. Peters: Enteric absorption rate of different glycosides and the dependency upon intestinal blood flow. Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 21o

1o2. Lukas, D.S.: Binding of digitoxin, digoxin, their genins and related digitoxosides to human plasma proteins. Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 31

1o3. ——— : The pharmacokinetics and metabolism of digitoxin in man. Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 84

1o4. Lukas, D.S.; A.G. De Martino: Binding of Digitoxin and some related cardenolides to human plasma proteins
J. Clin. Invest. 48; 1o41 (1969)

1o5. ——— ; R.E. Peterson: Double isotope dilution derivate assay of Digitoxin in plasma, urine and stool of patients maintained on the drug.
J. Clin. Invest. 45; 782 (1966)

1o6. Malamos, B.; S. Moulopoulos; P. Kostamis; M. Balkoura; D. Binopoulos: Eine neue Isotopenmethode zur Bestimmung der Digitalisglykoside im Serum.
Münch. med. Wschr. 31; 1486 (1965)

1o7. Marcus, F.I.: Metabolism of digoxin in normal man and factors influencing the body distribution.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 112

1o8. ——— : Metabolism of digoxin in normal man and factors influencing the body distribution.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 112

1o9. ——— : The role of the liver in the transformation and excretion of digoxin.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 2oo

11o. ——— ; G.G. Kapadia: The metabolism of tritiated Digoxin in cirrhotic patients.
Gastroenterology 47; 517 (1964)

111. Marcus, F.I.; G.I. Kapadia; G.G. Kapadia:
The metabolism of digoxin in normal subjects.
J. Pharmacol. exp. Ther. 145; 2o3 (1964)

112. Meade, R.C.; Th. J. Kleist: Improved radioimmunassay of digoxin and other sterol-like compounds using Somogyi precipitation.
J. Lab. Clin. Med. 8o; 748 (1972)

113. Megges, R.; K. Repke: Über Faktoren, welche die orale Wirksamkeit von Herzglykosiden bestimmen.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 241; 534 (1961)

114. Michel, D.; O. Hartleb: Zur Frage einer Geschlechtsabhängigkeit des Strophantineffektes beim Menschen.
Z. f. Kreislaufforschung 47; 58o (1958)

115. Ohnhaus, E.E.; P. Spring; L. Dettli: Eliminationskinetik und Dosierung von Digoxin bei Patienten mit Niereninsuffizienz.
Dtsch. med. Wschr. 99; 1797 (1974)

116. Okita, G.T.; F.E. Kelsey; P.J. Talso; L.B. Smith; E.M.K. Geiling: Studies on the renal excretion of radioactive Digitoxin in human subjects with cardiac failure.
Circulation 7; 161 (1953)

117. ——— ; P.J. Talso; J.H. Curry; F.D. Smith; E.M.K. Geiling: Metabolic fate of radioaktive digitoxin in human subjects.
J. Pharmacol. exp. Ther. 115; 371 (1955)

118. Oliver, Ch.: Radioimmunoassay, digitoxin.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 78

119. Oliver, G.Ch.; B.M. Parker; D.L. Brasfield; Ch. W. Parker: The measurement of Digitoxin in human serum by radioimmunassay.
J. Clin. Invest. 47; 1o35 (1968)

12o. — ; R. Taxman; R. Frederickson: Influence of congestive heart failure on digoxin blood levels.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 336

121. Orloff, J.; M. Burg: Effect of strophantidin on electrolyte excretion in the chicken.
Amer. J. Physiol. 199; 49 (196o)

122. Page, E.; J.D. Real: Interrelationships between cardiac effects of ouabain, hypocalcemia and hyperkalemia.
Circulation Res. 3; 5o1 (1955)

123. Park, H.M.; J.-W. Chen; G.T. Manitasas; A. Lowey; E.L. Saenger: Clinical evaluation of radioimmunoassay of Digoxin.
j.n.m. 14; 531 (1973)

124. Peters, U.; T.U. Hausamen; F. Grosse-Brockhoff: Therapie mit Digitoxin unter Kontrolle des Serum-Digoxinspiegels.
Dtsch. med. Wschr. 99; 17o1 (1974)

125. Piechowski, U.; H. Grobecker; K. Greeff: Vergleich der Wirkung des Strophantins und Digitonins auf die Membran-ATP-ase und den aktiven Kationentransport von Erythrocyten.
Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 274; 43 (1964)

126. Portius, H.J.; K. Repke: Die Wirkung von Herzglykosiden auf verschiedene ATP-asen des Herzmuskels in Abhängigkeit vom Ionenmilieu.
Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 274; 355 (1964)

127. Redfors, A.; A. Bertler; H. Schüller: The ratio between myocardial and plasma levels of digoxin in man.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73 Oslo S. 265

128. Rennekamp, H.; Ch. Rennekamp; U. Abshagen; K.v.Bergmann; N. Rietbrock: Pharmacokinetic behaviour of 4'''-Methyldigoxin in man.
Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 273; 172 (1972)

129. Repke, K.: Über Digitoxin-Metaboliten bei der Ratte.
Naturwissenschaften 45; 94 (1958)

130. ——— : Ein neues Verfahren für die quantitative Bestimmung von Cardenolid- und Digitanolverbindungen mit m-Dinitrobenzol.
Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 234; 147 (1958)

130. Rietbrock, N.; U. Abshagen: Stoffwechsel und Pharmakokinetik der Lanataglykoside beim Menschen. Dtsch. med. Wschr. 98; 117 (1973)

131. ▬ ; ▬ ; K.v. Bergmann; H. Kewitz: Pharmacokinetics of Digoxin and its 4'''-acetyl- and methylderivates in the rat. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 274; 171 (1972)

132. ▬ ; H.V. Plato; K.v. Bergmann; U. Abshagen; H. Kewitz: Resorption, Verteilung und Elimination von Digoxin bei der Ratte. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 269; 428 (1971)

133. Roesch, A.; K. Koch; W. Schaumann: ß-Methyl-Digoxin. V. Protein binding, tissue distribution and extracardiac effects in rats and mice. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 279; 211 (1973)

134. Ruiz-Torres, A.: Stoffwechsel und Kinetik von Herzglykosiden. Aktuelle Digitalisprobleme, 2. Berl. Arbeitstagung Dez. 1970; S. 62 und nicht veröffentlicht.

135. ▬ ; H. Burmeister: Stoffwechsel und Kinetik von ß-Acetyldigoxin. Klin. Wschr. 50; 191 (1972)

136. Schaefer, J.; P.A. van Zwieten: Digitalispräparate nicht schematisch dosieren. Dtsch. med. Wschr. 98; 1377 (1973)

137. Schatzmann, H.J.: Herzglykoside als Hemmstoff für den aktiven Kalium- und Natriumtransport durch die Erythrocytenmembran. Helv. physiol. pharmacol. Acta 11; 346 (1953)

138. Schaumann, W.: Zur Frage der additiven Wirkung von Herzglykosiden. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 274; 39 (1964)

139. — : Influence of Achylia on resorption of digoxin and digitoxin. Münch. med. Wschr. 112; 3o4 (197o)

14o. — ; K. Koch; H.R. Mattern: Extrarenal actions of aldosterone antagonists in guinea pigs II, Reduction of the toxicity of ß-Methyl-Digoxin. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 279; 9 (1973)

141. — ; F. Zielske; K. Kohler; K. Koch: ß-Methyl-Digoxin: III. Speed of absorption in guinea-pigs in comparison to other cardiac glycosides. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 272; 32 (1972)

142. Scheler, F.: Digitaliswirkung bei gestörter Nierenfunktion: Probleme der klin. Prüfung herzwirksamer Glykoside. 1973 S. 51

143. Schliack, H.; G. Fischer; A. Ruiz-Torres: Bild einer doppelseitigen retrobulbären Optikusneuritis bei Digitalisüberdosierung.
Dtsch. med. Wschr. 92; 973 (1967)

144. Schneider, K.W.; W. Gattenlöhner: Die unterschiedlichen Veränderungen der zentralen Hämodynamik durch Digitalis purpurea - und lanata Präparate.
Verh. Dtsch. Ges. f. Innere Med. 77; 98o (1971)

145. Schoenwald, R.D.: Evidence for variable Digoxin absorption as estimated by pharmacological response intensities.
J. Pharmaceut. Sci. 63; 411 (1974)

146. Seller, R.H.; J. Cangiano; K.E. Kim: Digitalis toxicity and hypomagnesemia.
Amer. H. J. 79; 57 (197o)

147. Shapiro, W.; K. Narahara; K. Taubert: Relationship of plasma Digitoxin and Digoxin to cardiac response following intravenous digitalization in man.
Circulation 42; 1o65 (197o)

148. ——— ; K. Taubert; K. Narahara: Non radioactive serum Digoxin and Digitoxin levels.
Arch. Int. Med. 13o; 51 (1972)

149. Sheiner, L.B.; B. Rosenberg; V.V. Marathe; C. Peck: Differences in serum digoxin concentrations between outpatients and inpatients: An effect of compliance.
Clin. Pharmacol. Ther. 15; 239 (1973)

150. Smith, Th.W.: Radioimmunassay for serum digitoxin concentration: methodology and clinical experience.
J. Pharmacol. exp. Ther. 175; 352 (1970)

151. — : The clinical use of serum cardiac glycoside concentration measurements.
Amer. H. J. 82; 833 (1971)

152. — : Principles of radioimmunassay: digoxin.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 70

153. — ; V.P. Butler jr.; E. Haber: Determination of therapeutic and toxic serum digoxin concentrations by radioimmunassay.
New. Engl. J. of Med. 281; 1212 (1969)

154. — ; — ; — : Characterization of antibodies of high affinity and spezificity for the Digitalis Glykoside Digoxin.
Biochemistry 9; 331 (1970)

155. — ; E. Haber: Measurement of clinical blood levels of Digoxin by radioimmunoassay.
J. Clin. Invest. 48; 78a (1969)

156. — ; — : Current techniques for serum or plasma digitalis assay and their potential clinical application.
Amer. J. Med. Sci 259; 301 (1970)

157. — ; — : Digoxin intoxication: the relationship of clinical presentation to serum Digoxin concentrations
J. Clin. Invest. 49; 2377 (1970)

158. Smith, Th.W.; E. Haber: The clinical value of serum digitalis glycoside concentrations in the evaluation of drug toxicity
Ann. N.Y. Acad. 178; 322 (197o)

159. Solomon, H.M.; S.T.D. Reich: A source of error in digoxin radioimmunassay.
Lancet 14; 1o38 (197o)

16o. ▬ ; ▬ ; N. Spirt; W.B. Abrams: Interactions between Digitoxin and other drugs in vitro and in vivo.
Ann. N.Y. Acad. Sci 179; 362 (1971)

161. Sonnenblick, E.H.; J.F. Willams jr.; G. Glick; D.T. Mason: Studies on Digitalis. XV. Effects of cardiac glycosides on myocardial force-velocity relations in the nonfailing human heart.
Circulation 34; 532 (1966)

162. Steiness, E.: Renal excretion of digoxin.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 178

163. Stoll, A.; J. Renz: Spaltung von Herzglykosiden mit Enzympräparaten aus tierischen Organen.
Helv. chim. Acta 34; 782 (1951)

164. Storstein, L.: Paper and thin layer chromatography.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 9

165. Storstein, O.: Digitoxin: present knowledge of pharmacokinetics and pharmacodynamics.
Symposium on Digitalis 22. - 23. II. 73
Oslo S. 41o

166. Strobach, H.: Untersuchungen über den Metabolismus der Digitalisglykoside unter Verwendung radioaktiver Isotope.
Probleme der klin. Prüfung herzwirksamer Glykoside 1973 S. 45

167. ——— ; K. Greeff; F.A. Horster; W. Wildmeister: Determination of serum Digoxin levels by radioimmunassay following application of Digoxin, Acetyldigoxin and Methyldigoxin in man.
Fifth Asian Pacific Congress of Cardiology Free Communications 8th - 13th Octobre 1972 S. 244

168. Tuzson, J.; G. Vastagh: Über die quantitative papierchromatographische Trennung von Digitalisglykosiden.
Pharm. Acta Helv. 3o; 444 (1955)

169. Vogt, W.: Probleme der Standardisierung herzwirksamer Glykoside.
Arzneimittelforschung 17; 1237 (1967)

17o. Voigtländer, W.; W. Schaumann; K. Koch; F. Zielske: ß-Methyl-Digoxin. IV Blood levels; tissue distribution and metabolism in the guinea-pig.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 272; 46 (1972)

171. Wagener, H.-H.: Die enterale Resorption von Digoxin und ß-Acetyldigoxin an Meerschweinchen.
Probleme der klin. Prüfung herzwirksamer Glykoside 1973 S. 56

172. Wagner, J.G.; J.D. Yates; P.W. Willis; E. Sakmar; R.G. Stoll: Correlation of plasma levels of digoxin in cardiac patients with dose and measures of renal function.
Clin. Pharm. and Ther. 15; 291 (1973)

173. Warren, M.C.; R.E. Gianelly; S.L. Cutler: Digitalis toxicity II. The effect of metabolic alkalosis
Amer. H.J. 75; 358 (1968)

174. Wessels, F.; A. Samidazeh; H. Losse: Diagnose der Digitalisintoxikation durch Bestimmung der Erythrocyten-Elektrolyte.
Klin. Wschr. 52; 451 (1974)

175. White, R.J.; D.A. Chamberlain; M. Howard; Th.W. Smith: Plasma concentrations of digoxin after oral administration in the fasting and postprandial state.
Brit. med. J. I; 380 (1971)

176. Wildmeister, W.; H. Strobach; K. Greeff; F.A. Horster: Zur Pharmakokinetik von Digoxin, Acetyldigoxin und Methyldigoxin bei Gesunden und Kranken.
Verh. Dtsch. Ges. f. Innere Medizin. 79; 1037 (1973)

177. Wirth, K.; G. Bodem; H.-J. Dengler: Kinetik und Stoffwechsel von Digoxin und verwandten Herzglykosiden beim Menschen.
Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol. 269; 427 (1971)

178. Wirth, K.; G. Bodem; H.-J. Dengler: Resorption, Ausscheidung und Stoffwechsel von Digoxin und digoxinverwandten Verbindungen.
Aktuelle Digitalisprobleme 2. Berl. Arbeitstagung Dez. 197o S. 51

179. Yalow, R.R.; S.A. Berson: Immunoassay of endogenous insulin in man.
J. Clin. Invest. 39; 1157 (196o)

18o. Zeegers, J.J.W.; A.H.J. Maas; A.F. Willebrands; H.H. Kruyswijk: G. Iambroes: The radioimmunoassay of Plasma-Digoxin.
Clin. Chim. Acta 44; 1o9 (1973)

181. Zilly, G.: Digitalistoleranz bei Patienten mit akuter diffuser Leberzellschädigung.
Klinikarzt 7; 73 (1973)

Herrn Prof. Dr. med. A. Ruiz - Torres
danke ich für die Überlassung des Themas
und die wertvolle Unterstützung bei
Erstellung der Arbeit.

Lebenslauf

Jutta Schneider geboren 17.8.1941 in Berlin

Abitur : 1961 - Ranke-Gymnasium Berlin

Medizinstudium: 1961 - 1967 an der FU Berlin
Physikum April 1964
Staatsexamen Sept. 1967

Medizinalassistentenzeit:

1.1o.67 - 31.o1.68 Chirurgie
Klinikum Westend
FU Berlin

1.o2.68 - 3o.11.68 II. Med. Klinik
Klinikum Westend
FU Berlin
(cardiolog. Wachstation;
Stoffwechselabteilung
künstl. Niere)

1.12.68 - 27.o2.69 Gynäkologie
Haus Dahlem Berlin

1.o3.69 - 3o.o9.69 Orthopädie
Oskar Helene Heim
Berlin

Approbation : 1.1o.69
seither Wiss. Assistentin an der
FU Berlin im Klinikum Westend

1.1o.69 - 31.12.71 Hämatolog.-Onkolog.
Abteilung
+ Hämoblastoseambulanz

seit 1. Jan. 72 Stoffwechselabteilung